

N° d'ordre...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Sciences de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par :

M^{lle} TAMERT Asma

Spécialité : Sciences de l'environnement

Option : Ecologie végétale et environnement

Intitulé

*Labiées des monts de Tessala
(Wilaya de Sidi Bel Abbès):
Histologie et phytochimie*

Soutenue le

Devant l'honorable jury composé de :

Président de jury: M^r MEHDADI Zoheir(Professeur, UDL/SBA)

Examineurs: M^r HASNAOUI Okacha (Professeur, Université de Saïda)

M^r CHADLI Rabah(Professeur, Université de Mostaganem)

Directeur de thèse: M^r LATRECHE Ali(Professeur, UDL/SBA)

Année universitaire 2015 - 2016

Dédicace

Je dédie ce travail à :

À mes chers parents qui m'ont donné la possibilité de poursuivre mes études, pour l'espoir qu'ils me donnent, pour leurs conseils, leur guide affectueux dans la vie et leur soutien et encouragements durant mes années d'études, et j'espère que je puisse leur rendre le minimum de bonheur qu'ils m'ont offert, et que Allah les protège et les garde à mes côtés ;

À mon frère Mohamed Amine ; ma sœur Faïza

À mes collègues et mes amis

TAMERT Asma

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier tout d'abord le Bon Dieu tout puissant pour son aide et sa bénédiction.

Mes profonds gratitudee à mon encadreur monsieur LATRECHE A., professeur à l'université DJILLALI Liabès de Sidi Bel Abbès, qui a dirigé toujours avec beaucoup de compétence et d'efficacité, en faisant toujours preuve à mon égard de compréhension et de gentillesse. Son expérience, son aide, ses encouragements et ses conseils ont été décisifs dans le développement de ce travail.

Je tiens également à remercier monsieur MEHDADI Z., professeur à l'université DJILLALI Liabès de Sidi Bel Abbès de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury et pour son aide et ses conseils tout le long de la réalisation de ce travail.

J'exprime mes respectueux remerciements à monsieur HASNAOUI O., professeur à l'université Tahar Moulay de Saida d'avoir accepté de faire partie de notre jury de thèse.

À monsieur CHADLI R., professeur à l'université Ibn Badis de Mostaganem, j'adresse mes sincères remerciements pour avoir bien voulu admettre d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier madame Aouad L., maître conférence "A" à l'université DJILLALI Liabès de Sidi Bel Abbès, pour m'avoir aidée dans la réalisation de la partie microbiologique. J'ai beaucoup apprécié sa disponibilité et ses conseils avisés.

Je remercie toute l'équipe du service d'Anatomie-Pathologie (ANAPAT) au niveau de centre hospitalo-universitaire Abdelkader HASSANI de Sidi Bel Abbès, pour sa contribution à la réalisation des coupes anatomiques.

Mes sincères remerciements vont également à monsieur EL OUALIDI J., professeur au département d'Écologie et Botanique Végétale, Institut Scientifique de Rabat, Maroc et tous les membres du département, pour m'avoir chaleureusement accueilli au sein de leur département ainsi que pour leur disponibilité, leurs conseils, et leur gentillesse.

Je remercie enfin tous les membres du laboratoire de recherche "Biodiversité végétale : conservation et valorisation" pour leur collaboration et leurs conseils.

Et tous ceux dont l'apport a été indispensable au cours de l'élaboration de cette présente étude.

Résumé – Abstract- الملخص

المخلص

تنتمي نبتة خياطة الجراح (*Phlomis crinita Cav.*)، النابطة (*Satureja calamintha Scheele.*)، الزعتر البري (*Origanum vulgare L.*)، الفليو (*Mentha pulegium L.*)، الزعتر (*Thymus serpyllum L.*)، و الزعيترة (*Thymus vulgaris L.*)، إلى عائلة الشفويات (*Lamiaceae*) ، يستخدمون في الطب و الصيدلة القديمة.

في إطار تقدير هذه النباتات ، قمنا أولاً بالتقييم الكمي الملون للفينولات الكلية ، الفلافونيدات لكونها الصنف الأكثر أهمية في عائلة متعدد الفينولات بالإضافة إلى كمية الدباغ المكثف و الدباغ القابل للانحلال في الماء . أظهر تقييم المواد الفينولية المتعددة أن نسبة الدباغ المكثف تتراوح بين 0,564 إلى 1,794٪ ، الدباغ القابل للانحلال في الماء تتراوح بين 0,085 و 0,139٪ ، تركيز الفينولات الكلية يقدر 17,60 إلى 71,04 مغ م ح غ / غ من المادة الجافة ، أما كمية الفلافونيدات نسبتها من 4,29 إلى 7,34 مغ م ك/غ من المادة الجافة.

سلط الفحص الكيميائي النباتي الضوء على وجود مواد لديها العديد من القيم العلاجية (الفلافونيدات ، الدباغ ، الفلويدات، الكومارينات...).

يظهر إختبار القدرة المضادة للميكروبات للمستخلصات الإيثانولية، المغلية و المنقوعة لأوراق النباتات المدروسة المأخوذة من جبل تسالة ضد ثلاث سلالات بكتيرية و سلالتان من الفطر تأثير متوسط ضد صنف البكتيريا و نشاط ملحوظ ضد الفطريات وخصوصاً ضد الكانديدا. أقطار التنشيط المسجلة تجاوزت أحيانا تلك التي سببتها مضادات الفطريات المسوقة. من ناحية أخرى، فإن القدرة الميكروبية للمستخلصات المأخوذة من أوراق النباتات الستة المدروسة تختلف حسب الصنف، نوع المستخلص و تركيزه، و حسب نوع السلالة. من بين النباتات المدروسة ، الزعتر و الزعيترة هي النباتات التي لديها أكبر قدرة مضادة للميكروبات.

يدل إختبار محاصرة الجدار الحر أن نسب النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الإيثانولية، المغلية و المنقوعة لأوراق النباتات المدروسة المأخوذة من جبل تسالة تتغير حسب الصنف، و نوع المستخلص المدروس. سجلت المستخلصات الإيثانولية و المغلية أعلى نسب التنشيط بعكس المستخلصات المنقوعة. فيما يخص النباتات، تظهر النتائج أن مستخلصات الزعتر البري، الفليو، الزعتر و الزعيترة، لديها أعلى النسب المضادة للأكسدة. تتراوح نسب تثبيط 50 للمستخلصات ما بين 0,32 و 2 ملغ/مل و تكون أقل من المعيار المستخدم (حمض الاسكوربيك).

الملاحظات التشريحية و النسيجية للأوراق مكنتنا من التعرف على التريكومات التي تعرف كموقع حقيقي لتكوين المكونات الثانوية.

هذه النتائج توفر معلومات حول معرفة هذه الأنواع ومواصفاتهم ولكن تعكس أساساً المنهج المقارن للاختلافات ما بين هذه الشفويات.

الكلمات المفتاحية: الشفويات، متعدد الفينولات، الفحص الكيميائي، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضادة للأكسدة، التريكومات.

Résumé

Phlomis crinita Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L. sont des Lamiacées utilisées en médecine et pharmacopée traditionnelles.

En vue de la valorisation de ces espèces, nous avons tout d'abord procédé aux dosages quantitatifs des phénols totaux, ainsi que les flavonoïdes comme étant la classe la plus importante de la famille des polyphénols et à une quantification des tanins condensés et hydrolysables. La quantification des composés polyphénoliques a montré que le taux des tanins condensés varie de 0,564 à 1,794 %, les tanins hydrolysables varient de 0,085 à 0,139 %, le taux des phénols totaux est de 17,60 à 71,04 mg EAG/g de matière sèche, tandis que le taux des flavonoïdes est de 4,29 à 7,34 mg EC/g de matière sèche.

Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques (flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et coumarines...).

L'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques, décoctés et infusés des feuilles de *P. crinita*, *S. calamintha*, *M. pulegium*, *O. vulgare*, *T. serpyllum* et *T. vulgaris* du monts de Tessala vis-à-vis de trois souches bactériennes (*Escherichia coli* ATTC 25922, *Bacillus cereus* ATTC 10876 et *Proteus mirabilis* ATTC 35659) et deux souches fongiques (*Candida albicans* ATTC 10231 et *Aspergillus brasiliensis* ATTC 16404) montre un effet antibactérien modéré sur les bactéries et une remarquable activité antifongique surtout vis-à-vis *C. albicans*. Les diamètres d'inhibition enregistrés dépassent souvent ceux induit par les antifongiques commercialisés. D'autre part, le potentiel antimicrobien des extraits obtenus des feuilles des six espèces étudiées varie en fonction du taxon, de l'extrait testé et sa concentration et du type de la souche. Parmi les espèces étudiées, les thyms présentent le pouvoir antimicrobien le plus élevé.

Le test de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) montre que les pourcentages de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques, décoctés et infusés obtenues des feuilles des plantes choisis des monts de Tessala varient en fonction de l'espèce et du type de l'extrait testé. Les extraits décoctés et éthanoliques enregistrent les pourcentages d'inhibition les plus élevés contrairement aux extraits infusés. Concernant les espèces, Les résultats montrent que les extraits de *O. vulgare*, *M. pulegium*, *T. serpyllum* et *T. vulgaris* possèdent les activités antioxydantes les plus importantes. Les concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) variant de 0,32 à 2 mg/ml sont plus faibles que celle enregistrée par le standard utilisé (acide ascorbique).

Les observations anatomique et l'histologique des feuilles ont permis d'identifier les trichomes qui sont connus comme un véritable siège pour la synthèse de plusieurs métabolites secondaires.

Ces constatations apportent des compléments quant à la connaissance de ces taxons et de leurs caractères mais surtout rend compte les différences entre ces labiées.

Mots clés: *Lamiaceae*, Polyphénols, Criblage phytochimique, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante, Trichomes.

Abstract

Phlomis crinita Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. of *Lamiaceae* are used in traditional medicine and pharmacopeia.

In order to promote these species, we carried out a quantitative dosage of total phenols, flavonoids as well as condensed and hydrolysable tannins. The dosage of polyphenolic compounds showed that the rate of the condensed tannins varied from 0,564 to 1,794 % and the hydrolysable tannins varied from 0,085 to 0,139 %. The rate of total phenols was included between 17,60 and 71,04 mg GAE/g of matter dries. However, the rate of the flavonoids was 4,29-7,34 mg CE/g of dry matter.

Phytochemistry screening allowed to highlight the presence of substances of high therapeutic value (flavonoids, tannins, alkaloids and coumarins...).

The antimicrobial activity of ethanolic, decoction and infused extracts of leaves from *P. crinita*, *S. calamintha*, *M. pulegium*, *O. vulgare*, *T. serpyllum* and *T. vulgaris* from the mount of Tessala against three bacterial strains (*Escherichia coli* ATTC 25922, *Bacillus cereus* ATTC 10876 et *Proteus mirabilis* ATTC 35659) and two fungal strains (*Candida albicans* ATTC 10231 et *Aspergillus brasiliensis* ATTC 16404) showed a moderate antibacterial effect on bacteria and a remarkable activity especially against *C. albicans*. The inhibition diameters recorded often exceed those induced by antifungal commercialized. In other hand, the antimicrobial potential of the extracts of the leaves of six species studied varied depending on the taxa, on the tested extract and its concentration and on the type of microbial strain. Among the studied species, the thymes have the highest antimicrobial power.

The test of free radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) showed that the antioxidant activity of ethanolic, decoction and infused extracts obtained from the leaves of the plants selected of the mounts of Tessala varied depending on the taxa, on the type of the extract tested. The ethanolic and decoction extracts recorded the highest percentages of inhibition unlike to the infused extracts. Concerning the species, the results showed that the extracts of *O. vulgare*, *M. pulegium*, *T. serpyllum* and *T. vulgaris* have the most significant antioxidant activities. The inhibitory concentrations 50 (IC₅₀) varied from 0,32 to 2 mg/ml and they are lower than that recorded by the standard used (ascorbic acid).

The anatomical and histological observations of the leaves were studied. They made it possible to identify the trichomes known as a seat for the synthesis of several secondary metabolites.

These findings have brought additional data for the better knowledge of these taxa and of their characters especially highlight the differences between these *Lamiaceae*.

Key words: *Lamiaceae*, Polyphenols, Phytochemical screening, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Trichomes.

Liste des tableaux

Tableau 1: Évolution du statut taxonomique de la famille des <u>Lamiaceae</u>	3
Tableau 2: Classes des polyphénols	18
Tableau 3: Structures générales des hétérocycles des flavonoïdes	19
Tableau 4: Nombre approximatif des antibiotiques produits par différents groupes d'organismes	29
Tableau 5: Classification des antibiotiques selon le mécanisme d'action	30
Tableau 6: Classification des antifongiques selon la cible	32
Tableau 7: Répartition des précipitations annuelles (en mm) de la commune de Tessala (1980-2015)	49
Tableau 8: Précipitations (en mm) et températures (en °C) moyennes mensuelles (1980-2015)	51
Tableau 9: Régime saisonnier des Précipitations de la station de Tessala de la période 1980-2015	53
Tableau 10: Moyennes mensuelles de vitesse des vents en m/s	53
Tableau 11: Fréquence moyenne mensuelle des gelées	53
Tableau 12: Moyennes mensuelles du taux d'humidité relative	53
Tableau 13: Coordonnées des espèces étudiées	55
Tableau 14: Les antibiotiques et les antifongiques utilisés	68
Tableau 15: Protocole de déshydratation et imprégnation	71
Tableau 16: Concentrations moyennes en phénols totaux et en flavonoïdes des feuilles des plantes (en mg/g de matière sèche ± écart type)	73
Tableau 17: Teneurs moyennes des tanins condensés et tanins hydrolysables des feuilles des espèces étudiées (en % ± écart type)	74
Tableau 18: Analyse de la variance à un seul critère de classification (Phénols totaux)	76
Tableau 19: Analyse de la variance à un seul critère de classification (Flavonoïdes)	76
Tableau 20: Analyse de la variance à un seul critère de classification (tanins condensés)	76
Tableau 21: Analyse de la variance à un seul critère de classification (Tanins hydrolysables)	76
Tableau 22: Contribution des individus sur axes 1 et 2	77
Tableau 23: Screening phytochimique des espèces étudiées	78
Tableau 24: Aspects, couleurs et rendements des extraits des six espèces étudiées	82
Tableau 25: Diamètres des zones d'inhibition en mm et sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques commercialisés.	83
Tableau 26: Diamètres des zones d'inhibition en mm, sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de <u>Phlomis crinita</u>	86
Tableau 27: Diamètres des zones d'inhibition en mm, sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de <u>Satureja calamintha</u>	87
Tableau 28: Diamètres des zones d'inhibition en mm, sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de <u>Origanum vulgare</u>	87
Tableau 29: Diamètres des zones d'inhibition en mm, sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de <u>Mentha pulegium</u>	88

Tableau 30: Diamètres des zones d'inhibition en mm, sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de <u>Thymus serpyllum</u>	88
Tableau 31: Diamètres des zones d'inhibition en mm, sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de <u>Thymus vulgaris</u>	89
Tableau 32: Classement des extraits de <u>Phlomis crinita</u> selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités	96
Tableau 33: Classement des extraits de <u>Satureja calamintha</u> selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités	96
Tableau 34: Classement des extraits de <u>Origanum vulgare</u> selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités	97
Tableau 35: Classement des extraits de <u>Mentha pulegium</u> selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités	97
Tableau 36: Classement des extraits de <u>Thymus serpyllum</u> selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités	98
Tableau 37: Classement des extraits de <u>Thymus vulgaris</u> selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités	98
Tableau 38: Contribution des individus sur les axes 1 et 2	103
Tableau 39: Valeurs des IC ₅₀ et les pouvoirs antiradicalaires des extraits	106
Tableau 40: Contribution des individus sur les axes 1 et 2	108

Liste des figures

Figure 1: <i>Phlomis crinita</i> Cav.	5
Figure 2: <i>Satureja calamintha</i> Scheele	7
Figure 3: <i>Origanum vulgare</i> L.	9
Figure 4: <i>Mentha pulegium</i> L.	11
Figure 5: <i>Thymus serpyllum</i> L.	13
Figure 6: <i>Thymus vulgaris</i> L.	14
Figure 7: Structure nucléaire des flavonoïdes	19
Figure 8: La Cyanidine, flavonoïde responsable de la coloration des roses et d'autres fleurs	20
Figure 9: Structure des tanins condensés (a), un exemple de tanins condensé (b), gallitannins (c), et structure des ellagitannins (d)	21
Figure 10: Structure chimique de benzo-2-pyrone	22
Figure 11: Structure du Caféine	25
Figure 12: Structure chimique de l'isoprène	26
Figure 13: Structure du cholestérol	26
Figure 14: La solanine, une saponine rencontrée chez toutes les Solanaceae	27
Figure 15: Modes d'action des antibiotiques	30
Figure 16: Principe du test DPPH	39
Figure 17: Anatomie de la feuille	41
Figure 18: Les trichomes glandulaires capitées de types 1, 2, 3	42
Figure 19: Les trichomes glandulaires peltées de types 1, 2, 3	42
Figure 20: Les trichomes non glandulaires (tecteurs)	43
Figure 21: Localisation de la commune de Tessala dans la wilaya de Sidi Bel Abbès	46
Figure 22: Précipitations mensuelles moyennes (en mm) de la commune de Tessala (1980-2015)	49
Figure 23: Variation interannuelles des précipitations moyennes annuelles	50
Figure 24: Variation des températures moyennes mensuelles de la période 1980-2015	51
Figure 25: Diagramme ombrothermique ($P=2T$) de la station de Tessala de la période 1980-2015	52
Figure 26: Localisation des espèces étudiées	55
Figure 27: Protocole d'extraction des phénols totaux et des flavonoïdes	56
Figure 28: Protocole de dosage des phénols totaux	57
Figure 29: Protocole de dosage des flavonoïdes	58
Figure 30: Protocole de dosage des tanins condensés	59
Figure 31: Protocole de dosage des tanins hydrolysables	60
Figure 32: <i>Escherichia coli</i>	64
Figure 33: <i>Bacillus cereus</i>	65
Figure 34: <i>Proteus mirabilis</i>	65
Figure 35: <i>Candida albicans</i>	66
Figure 36: <i>Aspergillus brasiliensis</i>	66

Figure 37: Concentrations moyennes en phénols totaux et en flavonoïdes des feuilles des six <i>Lamiaceae</i> étudiées (en mg/g de matière sèche \pm écart type)	73
Figure 38: Courbe d'étalonnage des phénols totaux réalisée par l'acide gallique	74
Figure 39: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée par la catéchine	74
Figure 40: Teneurs moyennes en tanins condensés et en tanins hydrolysables des feuilles des plantes étudiées (en % \pm écart type)	75
Figure 41: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 \times F2)	77
Figure 42: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 \times F4)	77
Figure 43: Rendements des différents extraits	82
Figure 44: Représentation des diamètres de zone d'inhibition (mm) des antibiotiques commercialisés	84
Figure 45: Représentation des diamètres de zone d'inhibition (mm) des antifongiques commercialisés	84
Figure 46: Classification des extraits de <i>Phlomis crinita</i> selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)	99
Figure 47: Classification des extraits de <i>Satureja calamintha</i> selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)	99
Figure 48: Classification des extraits de <i>Origanum vulgare</i> selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)	99
Figure 49: Classification des extraits de <i>Mentha pulegium</i> selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)	100
Figure 50: Classification des extraits de <i>Thymus serpyllum</i> selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)	100
Figure 51: Classification des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)	100
Figure 52: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 \times F2)	103
Figure 53: Activité antioxydante des extraits de <i>Phlomis crinita</i>	104
Figure 54: Activité antioxydante des extraits de <i>Satureja calamintha</i>	104
Figure 55: Activité antioxydante des extraits de <i>Origanum vulgare</i>	104
Figure 56: Activité antioxydante des extraits de <i>Mentha pulegium</i>	104
Figure 57: Activité antioxydante des extraits de <i>Thymus serpyllum</i>	105
Figure 58: Activité antioxydante des extraits de <i>Thymus vulgaris</i>	105
Figure 59: Activité antioxydante de l'acide ascorbique	105
Figure 60: Les IC ₅₀ de l'acide ascorbique et des extraits des six plantes étudiées	106
Figure 61: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 \times F2)	108

Liste des planches

Planche I: Photos montrant le screening phytochimique de quelques composés des six plantes étudiées	78
Planche II: Photos montrant l'activité antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques commercialisés.	85
Planche III: Activité antimicrobienne des extraits de <u>Phlomis crinita</u>	90
Planche IV: Activité antimicrobienne des extraits de <u>Satureja calamintha</u>	90
Planche V: Activité antimicrobienne des extraits de <u>Origanum vulgare</u>	91
Planche VI: Activité antimicrobienne des extraits de <u>Mentha pulegium</u>	91
Planche VII: Activité antimicrobienne des extraits de <u>Thymus serpyllum</u>	92
Planche VIII: Activité antimicrobienne des extraits de <u>Thymus vulgaris</u>	93
Planche IX: Photos des trichomes de <u>Phlomis crinita</u>	109
Planche X: Photos des trichomes de <u>Satureja calamintha</u>	111
Planche XI: Photos des trichomes de <u>Origanum vulgare</u>	112
Planche XII: Photos des trichomes de <u>Mentha pulegium</u>	113
Planche XIII: Photos des trichomes de <u>Thymus serpyllum</u>	113
Planche XIV: Photos des trichomes de <u>Thymus vulgaris</u>	113

Liste des abréviations

- APG II:** angiosperm phylogenetic group II
EE: extrait éthanolique
ED: extrait décocté
EI: extrait infusé
ATM: aztréoname
CN: gentamicine
NA: acide nalidixique
CAZ: ceftazidime
IPM: imipenème
C: chloramphenicol
AMB: amphotéricine
TER: terbinafine
FLC: fluconazole
IT: Inhibition totale.
D: diamètre
S: sensibilité
N: nombre de tests
DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
DPPH-H: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine
IC₅₀: concentration inhibitrice 50
ARP: puissance antiradicalaire
Gr: groupe
Gr \times : grossissement
Tt: Trichome tecteur
Tsc: Trichome sécréteur capité
Tsp: Trichome sécréteur pelté
Pp: Parenchyme palissadique
Pl: Parenchyme lacuneux
mg EAG/g: milligramme équivalent acide gallique par gramme
mg EC/g: milligramme équivalent catéchine par gramme
t: tour
D.O: densité optique
UV: ultraviolet
UV-Vis: ultraviolet-visible
 λ : longueur d'onde
M: molaire
N: normalité
M: températures maximales
m: températures minimales
M+m/2: températures moyennes

PS: période sèche
PH: période humide
I: Indice d'aridité de De Martonne
S: station
ACP: analyse en composantes principales
ANOVA I: analyse de la variance à un seul facteur
SC: somme des carrés
DDI: degré de liberté
CM: carrés moyens
F: Fisher
R²: coefficient de régression
p: probabilité
IM: indice de mousse
AlCl₃: trichlorure d'aluminium
H₂SO₄: acide sulfurique
FeCl₃: trichlorure ferrique
HCl: acide chlorhydrique
DMF: diméthylformamide
O₂⁻: radical superoxyde
AH: composés phénoliques
H₂O₂: peroxyde superoxyde
SOD: superoxydes dismutases
CAT: catalase
GPx: glutathion peroxydase
GSH: glutathion réduit
GS-SG: disulfure de glutathion oxydé
ROOH: hydroperoxydes organiques
ROH: alcool
NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
NADP⁺: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
SeO₃²⁻: sélénite
H₂Se: sélénure
SeO₄²⁻: sélénate
Zn: zinc
ADN: acide désoxyribonucléique
ARN_m: acide ribonucléique messenger
ARN_t: acide ribonucléique de transfert
CMI: concentrations minimales inhibitrices
OMS: organisation mondiale de la santé
ONM: organisations nationale de la météorologie

Table des matières

<u>Dédicace</u>	I
<u>Remerciements</u>	II
<u>المخلص</u>	IV
<u>Résumé</u>	V
<u>Abstract</u>	VII
<u>Liste des tableaux</u>	IX
<u>Liste des figures</u>	XI
<u>Liste des planches</u>	XIII
<u>Liste des abréviations</u>	XIV
<u>Table des matières</u>	XVI
Introduction	1
<u>Partie I: Synthèse bibliographique</u>	
<u>Chapitre I: Présentation des espèces</u>	
1. La famille des <u>Lamiaceae</u>	3
1.1. Évolution du statut taxonomique	3
1.2. Caractéristiques morphologiques et botaniques des <u>Lamiacées</u> (<u>Les Labiées</u>)	3
1.3. Distribution et intérêt de la famille des <u>Lamiacées</u>	4
1.3.1. Distribution	4
1.3.1.1. Les principaux genres dans le monde	4
1.3.1.2. Genres présents en Algérie	4
1.3.2. Intérêt	4
1.3.3. Les espèces de la famille des <u>Lamiacées</u> qui ont un intérêt économique	5
2. L'espèce <u>Phlomis crinita</u> Cav.	5
2.1. Description morphologique	5
2.2. Distribution géographique	6
2.3. Les composés chimiques	6
2.4. Propriétés et usages	6
3. L'espèce <u>Satureja calamintha</u> Scheele. (= <u>Calamintha officinalis</u> Moench, <u>Calamintha nepeta</u> L.)	7
3.1. Description morphologique	7
3.2. Distribution géographique	7
3.3. Les composés chimiques	8
3.4. Propriétés et usages	8
4. L'espèce <u>Origanum vulgare</u> L.	9
4.1. Description morphologique	9
4.2. Distribution géographique	9
4.3. Les composés chimiques	9
4.4. Propriétés et usages	10
5. L'espèce <u>Mentha pulegium</u> L.	11
5.1. Description morphologique	11
5.2. Distribution géographique	11
5.3. Les composés chimiques	11
5.4. Propriétés et usages	12

6. L'espèce <i>Thymus serpyllum</i> L.	13
6.1. Description morphologique	13
6.2. Distribution géographique	13
6.3. Les composés chimiques	13
6.4. Propriétés et usages	13
7. L'espèce <i>Thymus vulgaris</i> L.	14
7.1. Description morphologique	14
7.2. Distribution géographique	15
7.3. Les composés chimiques	15
7.4. Propriétés et usages	15
<u>Chapitre II: Métabolites secondaires</u>	
1. Les composés phénoliques	17
1.1. Structure et catégories des composés phénoliques	17
1.1.1. Les acides phénoliques	18
1.1.2. Les flavonoïdes	18
1.1.2.1. Structure	18
1.1.2.2. Localisation et usage	20
1.1.3. Les tanins	20
1.1.3.1. Classification	21
1.1.3.1.1. Les tanins condensés	21
1.1.3.1.2. Les tanins hydrolysables	21
1.1.3.2. Distribution et localisation des tanins	22
1.1.4. Les lignines	22
1.1.5. Les coumarines	22
1.1.6. Les anthocyanes	22
1.2. Rôle et propriétés biologiques des composés phénoliques	23
1.2.1. Les propriétés biologiques des polyphénols	23
1.2.1.1. Propriété antioxydante	23
1.2.1.2. Activité antibactérienne	23
1.2.1.3. Autres propriétés biologiques	23
1.2.1.3.1. Anti-inflammatoire	23
1.2.1.3.2. Propriété préventive des maladies cardio vasculaires	23
1.2.1.3.3. Anti cancérogènes	24
1.2.1.3.4. Propriété préventive des flavonoïdes contre les ulcères	24
1.2.1.3.5. Propriété des flavonoïdes vis-à-vis des allergies	24
1.2.2. Rôle physiologique des polyphénols	24
1.2.2.1. La lutte contre les agents pathogènes	24
1.2.2.2. La couleur de la plante	24
1.2.2.3. L'astringence et le goût	25
2. Les alcaloïdes	25
3. Les terpènes	25
4. Les stéroïls et les stéroïdes	26
5. Les saponines	26

Chapitre III: Activités biologiques

1. Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques	28
2. Activité antimicrobienne	29
2.1. Les antibiotiques	29
2.1.1. Généralités	29
2.1.2. Classification des antibiotiques	29
2.1.3. Utilisation des antibiotiques	31
2.2. Les antifongiques	31
2.2.1. Généralités	31
2.2.2. Classification des antifongiques	31
2.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques	32
2.4. Les méthodes d'étude des tests antimicrobiens	33
2.4.1. Méthode de diffusion	33
2.4.2. Méthode de dilution	34
3. Activité antioxydante	34
3.1. Les radicaux libres et le stress oxydatif	34
3.2. Les antioxydants	35
3.2.1. Définition	35
3.2.2. Mécanismes d'action	35
3.2.2.1. Antioxydants primaires ou piègeurs des radicaux libres	35
3.2.2.2. Antioxydants secondaires ou préventifs	35
3.2.3. Classification	35
3.2.3.1. Les antioxydants naturels	36
3.2.3.1.1. Les antioxydants enzymatiques	36
3.2.3.1.1. Les antioxydants non enzymatiques	36
3.2.3.2. Les antioxydants synthétiques	38
3.2.4. Techniques d'évaluation de l'activité antioxydante	39
3.2.4.1. Test de piégeage du radical DPPH	39
3.2.4.2. Test du blanchissement du β -carotène	39
3.2.4.3. Test de réduction de fer (FRAP)	40

Chapitre IV: Aperçu sur les trichomes

1. La feuille	41
2. Les trichomes	42
2.1. Définition	42
2.2. Types des trichomes	42
2.2.1. Les trichomes glandulaires (sécréteurs)	42
2.2.1.1. Trichomes capités	42
2.2.1.2. Trichomes peltés	43
2.2.2. Les trichomes non glandulaires (tecteurs)	43
2.3. Trichomes des <u>Lamiaceae</u>	44
2.4. Fonctions des trichomes	45

Partie II: Partie expérimentale
Chapitre I: Présentation de site d'étude

1. Position géographique	46
2. Caractères orographiques	46
2.1. La pente	46
2.2. Exposition	47
2.3. Altitude	47
3. La pédologie	47
3.1. Étagement des sols	48
3.2. Types de sols	48
3.2.1. Les sols à sesquioxides de fer	48
3.2.2. Les sols bruns calcaires	48
3.2.3. Les vertisols	48
3.2.4. Les vertisols	48
4. Caractéristiques climatiques	48
4.1. Précipitations	49
4.2. Températures	50
4.3. Synthèse bioclimatique	51
4.3.1. Diagramme Ombrothermique (1980-2015)	51
4.3.2. Indice d'aridité de De Martonne	52
4.3.3. Régime saisonnier	52
4.4. Les vents	53
4.5. Les gelées	53
4.6. L'humidité	53
5. Les formations végétales	54
5.1. Taillis dense	54
5.2. Mattoral dense	54
5.3. Garrigue	54
5.4. Forêt claire	54

Chapitre II: Matériels & méthodes

1. Matériel végétal	55
2. Dosage des polyphénols	56
2.1. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes	56
2.1.1. Extraction	56
2.1.2. Dosage des phénols totaux par spectrophotométrie	57
2.1.2.1. Protocole	57
2.1.2.2. Courbe d'étalonnage	57
2.1.3. Dosage des flavonoïdes	58
2.1.3.1. Protocole	58
2.1.3.2. Courbe d'étalonnage	58
2.2. Dosage des tanins	58
2.2.1. Tanins condensés	58
2.2.2. Tanins hydrolysables	59
2.3. Traitement statistique des résultats biochimiques	60

<i>3. Screening (criblage) phytochimique et caractérisation des substances présentes dans les extraits</i>	61
<i>3.1. Caractérisation des tanins</i>	61
<i>3.1.1. Tanins catéchiques (Réaction de Stiasny)</i>	61
<i>3.1.2. Tanins galliques</i>	61
<i>3.2. Caractérisation des flavonoïdes</i>	61
<i>3.3. Caractérisation des flavanes</i>	61
<i>3.4. Caractérisation des saponosides</i>	62
<i>3.5. Caractérisation des substances stéroliques</i>	62
<i>3.6. Caractérisation des alcaloïdes</i>	62
<i>3.7. Détection des coumarines</i>	62
<i>3.8. Recherche des anthocyanes</i>	63
<i>3.9. Recherche des proanthocyanidols</i>	63
<i>4. Activités biologiques</i>	63
<i>4.1. Préparation des extraits</i>	63
<i>4.2. Les tests microbiologiques</i>	63
<i>4.2.1. Les souches microbiennes testées</i>	63
<i>4.2.2. Les milieux de culture</i>	66
<i>4.2.3. Tests du pouvoir antibactérien et antifongique des différents extraits</i>	67
<i>4.2.3.1. Préparation des solutions</i>	67
<i>4.2.3.1.1. Solutions mères</i>	67
<i>4.2.3.1.2. Solutions diluées</i>	67
<i>4.2.3.2. Test antibactérien et antifongique</i>	67
<i>4.2.3.2.1. Principe</i>	67
<i>4.2.3.2.2. Préparation de l'inoculum</i>	67
<i>4.2.3.2.3. Ensemencement</i>	67
<i>4.2.3.2.4. Dépôt des disques et incubation</i>	68
<i>4.2.3.2.5. Expression des résultats</i>	68
<i>4.2.4. Sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques</i>	68
<i>4.2.5. Classement des souches testées selon leurs sensibilités aux antibiotiques et aux extraits</i>	68
<i>4.3. Activité antioxydante</i>	69
<i>4.3.1. Evaluation de l'effet antioxydant des extraits</i>	69
<i>4.4. Traitement statistique</i>	69
<i>5. Étude anatomique</i>	70
<i>5.1. Matériel</i>	70
<i>5.1.1. Matériel végétal</i>	70
<i>5.1.2. Matériel de laboratoire</i>	70
<i>5.2. Méthode (les coupes semi fines)</i>	70
<i>5.2.1. Fixation des échantillons</i>	70
<i>5.2.2. Déshydratation et imprégnation des échantillons</i>	70
<i>5.2.3. Préparation des blocs</i>	71
<i>5.2.4. Confection des coupes</i>	71
<i>5.2.5. Montage des coupes sur lames</i>	71

5.2.6. Déparaffinage et réhydratation des coupes	71
5.2.7. Coloration à l'hématoxyline-éosine	71
5.2.8. Montage et observation au microscope optique	72

Chapitre III –Partie 1- : Résultats

1. Les polyphénols	73
1.1. Teneur en phénols totaux et flavonoïdes	73
1.2. Quantification des tanins condensés et tanins hydrolysables	74
1.3. Traitement statistique	75
1.3.1. Analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA 1)	75
1.3.2. Analyse en composantes principales (ACP)	76
2. Screening phytochimique	78
3. Activité biologiques	82
3.1. Préparation des extraits	82
3.1. Test antimicrobien	83
3.1.1. Test antimicrobien des antibiotiques et antifongiques commercialisés	83
3.1.2. Test antimicrobien des extraits	86
3.1.3. Pourcentages de l'effet antimicrobien des extraits et la sensibilité des souches	95
3.1.4. Analyse statistique (ACP)	102
3.2. Activité antioxydante	104
3.2.1. Pourcentages de réduction de radicale libre DPPH	104
3.2.2. Concentrations inhibitrices 50 (IC ₅₀) et les puissances antiradicalaires (ARP)	106
3.2.3. Analyse statistique (ACP)	107
1.4. Anatomie	109

Chapitre III –Partie 2- : Discussion

1. Dosage des polyphénols	115
2. Screening phytochimique	116
3. Activité biologiques	117
3.1. Test antimicrobien	118
3.2. Activité antioxydante	121
4. Anatomie	124
Conclusion	127
Références bibliographiques	129
Annexes	159

Introduction

Introduction

Les plantes sont depuis toujours utilisées par les populations à des fins curatives. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), quatre vingt pourcent de la population des pays en voie de développement ont recourt presque exclusivement à la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé primaire (Kansole, 2009).

Dans ces dernières années, les recherches scientifiques s'intéressaient aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments; sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leurs usages traditionnels (Bérubé-Gagnon, 2006). Parmi les 25 composés pharmaceutiques les plus vendus au monde, 12 sont issus de produits naturels (Gordon *et al.*, 1997; Rollinger *et al.*, 2004).

La matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. Parmi ces composés, on retrouve les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun, 1997). Les épices, les fruits et les herbes aromatiques sont considérés comme des sources importantes de flavonoïdes (Marfak, 2003).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur des espèces de la famille des *Lamiaceae* de l'Algérie (Khaled khoudja *et al.*, 2014), du Maroc (Moussaid *et al.*, 2012; Cherrat *et al.*, 2014), de l'Italie (Panizzi, 1993; Cosio *et al.*, 2006), de la France (Regnault-Roger *et al.*, 2004), de la Turquie (Sarac et Ugur, 2009), d'Iraq (Abdul sattar *et al.*, 2012), de la Croatie (Kulišić *et al.*, 2006), et d'Uruguay (Lorenzo *et al.*, 2002). Nous voulons dans notre thèse contribuer à la connaissance de quelques genres de cette famille taxonomique d'Algérie, importante sur le plan botanique mais surtout comme taxons réservoirs de substances actives diverses et importantes dans les utilisations médicinales traditionnelles.

Dans le présent travail, nous avons choisi six espèces de la famille des *Lamiaceae* d'Algérie: *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.

Les objectifs essentiels assignés au présent travail sont des études comparatives entre les six espèces sur ces plans suivants:

- ✓ étude quantitative du contenu des feuilles en polyphénols (phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et tanins hydrolysables);
- ✓ screening phytochimique des métabolites secondaires;
- ✓ étude des activités antibactérienne et antifongique des extraits éthanoliques, décoctés et infusés vis-à-vis cinq souches: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*;
- ✓ étude de l'activité antioxydante des trois extraits;
- ✓ étude anatomique et histologique des trichomes des feuilles des six espèces.

La thèse comportera les parties suivantes:

- ❖ Une première partie consacrée à la synthèse bibliographique. Cette partie contient:
 1. Une présentation des espèces étudiées: *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.;
 2. Des données générales sur les métabolismes secondaires;
 3. Des généralités sur les activités biologiques: antimicrobienne et antioxydante;
 4. Des données sur les trichomes: définition, classification et fonctions.
- ❖ Une seconde partie expérimentale, qui comporte trois chapitres :
 1. Une présentation de site d'étude "Monts de Tessala";
 2. Le deuxième chapitre traitant les matériels et les méthodes utilisés.
 3. Dans le troisième chapitre, nous exposerons l'ensemble des résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Présentation des espèces

1. La famille des *Lamiaceae*

1.1. Évolution du statut taxonomique

Parmi les classifications basées essentiellement sur des critères morphologiques et anatomiques, celles de Crète (1965) et de Cronquist sont les plus utilisées. Cependant, les classifications classiques ont été révisées en 2003 par APG II (Angiosperm Phylogenetic Group II), cela traduit les efforts faits en systématique pour tenir compte des dernières avancées en biologie moléculaire. Selon ces classifications, la famille des *Lamiaceae* est classée dans le tableau 1.

Tableau 1: Évolution du statut taxonomique de la famille des *Lamiaceae*

Classification classique (Crété, 1965)	Classification classique Cronquist, 1969	APG II (Angiosperm Phylogenetic Group II), 2003
	Domaine: Eucaryotes	
Règne: Végétal	Règne: Végétal	Règne: <i>Plantae</i>
	Division: <i>Magnoliophyta</i>	Embranchement: Spermaphytes
		Sous embranchement: Angiospermes
Classe: <i>Magnoliopsida</i>	Classe: <i>Magnoliopsida</i>	Classe: Eudicotylédones
Sous classe: Gamopétales	Sous - classe: Astéridées	Sous classe: <i>Asteridae (Euasteridae I)</i>
Série: Hypogynes		
Sous série: Isostémones		
Ordre: Lamiales	Ordre: Lamiales	Ordre: Lamiales
Famille: Labiées	Famille: Lamiacées	Famille: <i>Lamiaceae</i>

1.2. Caractéristiques morphologiques et botaniques des Lamiacées (Les Labiées)

Selon Judd *et al.* (2002), les labiées comprennent 258 genres et 6970 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes: sauges, thyms, lavandes, romarins, caractérisent la flore des garrigues. Cette famille est exceptionnellement homogène : une Labiée est extrêmement facile à reconnaître.

Habitus : herbes ou arbustes, plantes aromatiques, poilues, glanduleuses, tige jeune quadrangulaire.

Feuilles : opposées-décussées, parfois verticillées, simples, parfois composées, dépourvues de stipules, adaptation des feuilles aux climats secs caractérisée par un limbe coriace, réduit et des poils sécréteurs.

Inflorescence : cymes terminales ou axillaires, condensées en verticille, parfois on observe des fleurs solitaires.

Fleur: Calice régulier, parfois bilabié, généralement persistant. Corolle tubuleuse, souvent bilabée, la lèvre inférieure a trois lobes, la supérieure a deux lobes. Disque nectarifère à la base de l'ovaire. Etamines généralement didynames,

parfois deux fertiles et deux staminodiales, insérées sur la corolle ; anthères à déhiscence longitudinale ; connectif parfois élargie. Ovaire supère bicarpellé ; carpelles divisés par une fausse cloison, formant quatre loges uniovulées ; style gynobasique, parfois terminal ; deux stigmates. Placentation axile ; un ovule solitaire par lobe, anatropé, unitégumenté.

Fruit: tétrakène formé par quatre nucules, parfois drupe. Graine avec un embryon droit, peu ou pas d'albumen (Spichiger *et al.*, 2004).

1.3. Distribution et intérêt de la famille des Lamiacées

1.3.1. Distribution

Les labiées sont cosmopolites, mais leur concentration est très importante dans les régions méditerranéennes. Ce sont généralement des plantes de milieux ouverts (Spichiger *et al.*, 2004).

1.3.1.1. Les principaux genres dans le monde

Nous citerons ci-dessous les genres les plus importants en fonction du nombre des espèces qui renferment :

Salvia (800 spp.), *Hyptis* (400), *Clerodendrum* (400), *Thymus* (350), *Plectranthus* (300), *Scutellaria* (300), *Stachys* (300), *Nepeta* (250), *Vitex* (250), *Teucrium* (200), *Premna* (200) et *Callicarpa* (140). Un grand nombre de genres existe aux États-Unis continentaux et/ou au Canada ; outre ceux qui sont énumérés ci-dessus, on peut citer parmi les plus représentatifs : *Agastache*, *Ajuga*, *Collinsonia*, *Dicerandra*, *Dracocephalum*, *Glechoma*, *Hedeoma*, *Hyssopus*, *Lamium*, *Leonurus*, *Lycopus*, *Mentha*, *Monarda*, *Physosregia*, *Piloblephis*, *Prunella*, *Pycnanthemum*, *Pycnostachys*, *Satureja* et *Trichostema* (Judd *et al.*, 2002).

1.3.1.2. Genres présents en Algérie

En Algérie, on énumère 24 genres : *Lamium*, *Phlomis*, *Ballota*, *Stachys*, *Salvia*, *Nepeta*, *Pitardia*, *Prunella*, *Cleonia*, *Marrubium*, *Sideritis*, *Melissa*, *Ziziphora*, *Satureja*, *Origanum*, *Thymus*, *Thymbra*, *Lycopus*, *Mentha*, *Lavandula*, *Prasium*, *Ajuga*, *Teucrium* et *Rosmarinus* (Valdès *et al.*, 2002).

1.3.2. Intérêt

Ce qui caractérise la famille des Lamiacées, ce sont les processus de chaleur qui la pénètrent profondément et y provoquent la genèse de « substances calorifiques » : les *huiles étheriques*, ou essences dans le plant et les *huiles grasses* dans les graines. Le processus floral et la genèse des *arômes* sont refoulés dans la région des tiges et des feuilles. Les labiées ont aussi en propre un processus hydrocarboné intense, générateur de sucre et d'amidon, qui se révèle, dans leur amidon très facile à digérer : le *galactane* (notamment dans le genre *Stachys*) (Pelikan, 2003).

1.3.3. Les espèces de la famille des Lamiacées qui ont un intérêt économique

La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par:

- Leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaire, ce sont les espèces des genres *Mentha* (la menthe), *Lavandula* (la lavande), *Marrubium*, *Nepeta* (l'herbe aux chats), *Ocimum* (le basilic), *Origanum* (l'origan), *Rosmarinus* (le romarin), *Salvia* (la sauge), *Satureja* (la sarriette) et *Thymus* (le thym).
- Les tubercules de quelques espèces de *Stachys* sont comestibles.
- De nombreux genres contiennent des espèces ornementales : on peut citer parmi eux *Ajuga* (le bugle), *Callicarpa*, *Clerodendrum*, *Plectranthus*, *Holmskioldia*, *Leonotis*, *Monarda*, *Pycnanthemum*, *Salvia*, *Scutellaria* et *Vitex* (Judd *et al.*, 2002).

2. L'espèce *Phlomis crinita* Cav.

2.1. Description morphologique

C'est un sous-arbrisseau à feuilles basales lancéolées cordiformes, pétiolées denticulées tomenteuses. Les florales sessiles oblongues à triangulaire. Tiges de 50-100 cm, rameuses. Inflorescences lâches. Corolle jaune intensément d'or. Verticilles de 6 à 10 fleurs. Calice soyeux à dents linéaires. Noms communs : Khayatta, El Khayatt adjarah (Quézel et Santa, 1963; Pottier-Alapetite, 1976; Valdès *et al.*, 2002; Limem-Ben Amor *et al.*, 2009).

Le spécimen de *Phlomis crinita* récolté à Tessala a été comparé et confirmé avec celui de l'herbier de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc (Annexe 1).



Figure 1: *Phlomis crinita* Cav. (Cliché TAMERT, Avril, 2014)

2.2. Distribution géographique

Ouest méditerranéenne, elle est présente dans le Sud d'Espagne, Nord ouest de l'Afrique (Tanger), W Rif, (Mamora). (Quézel et Santa, 1963; Valdès *et al.*, 2002; Mathiesen *et al.*, 2011).

2.3. Les composés chimiques

- **Huile essentielle**

On trouve dans l'huile essentielle des feuilles les sesquiterpènes: le transcaryophyllène (40,9%), et le germacrène D (39,1%).

Dans l'huile des fleurs, les sesquiterpènes : le β -caryophyllène (58,2%), et le germacrène D (35,1%) (Limem-Ben Amor *et al.*, 2009).

- **Flavonoïdes**

Chez *Phlomis crinita*, on note la présence des composés suivants: chrysoeriol-7-p-coumaroylglucoside, lutéoline, lutéoline-7-O- β -lucopyranoside, 6"-syringyl-sesamoside phenylethyacohol glycosides, acteoside = verbascoside (Kabouche *et al.*, 2005).

2.4. Propriétés et usages

- **Usages contre les brûlures et les lésions**

Phlomis crinita est utilisée comme bandage ou plâtre pour traiter des brûlures, des lésions et des infections de la peau et ses allergies. Elle est utilisée en Espagne, en Tunisie et en Algérie pour guérir des lésions et des brûlures en préparant un plâtre de feuilles hachées en ou comme poudre de la feuille séchée (Quézel et Santa, 1963 ; Pottier-Alapetite, 1976 ; Boukef, 1986 ; Limem-Ben Amor *et al.*, 2009).

- **Activité antiulcérogénique (in vivo)**

Plusieurs études ont confirmé l'activité gastroprotective de l'extrait aqueux de *Phlomis crinita* (Gürbüz *et al.*, 2003, Limem-Ben Amor *et al.*, 2009).

Limem- Ben Amor *et al.* (2009) a démontré que l'extrait aqueux (300mg/l) de *Phlomis crinita* réduit les ulcérrogéniques, induit avec l'alcool 50°, chez les souris. Il réduit les ulcérrogéniques par 91% par rapport à la cimétidine (le contrôle positif), lequel inhibe les ulcérrogéniques par 71%.

Phlomis crinita est utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter des lésions et des brûlures. Limem- Ben Amor *et al.* (2009) précise que *Phlomis crinita* protège les épithéliums de l'estomac contre les lésions induites par l'alcool. Ceci prouve les usages ethnopharmacologiques de *Phlomis* comme étant une plante gastroprotectrice.

- **Activité antimicrobienne**

D'après Limem- Ben Amor *et al.*, (2008), l'enquête de l'activité antibactérienne de huile essentielle des feuilles et des fleurs de *Phlomis crinita* a montré un effet inhibiteur sur les bactéries suivantes :

- ✓ *Enterococcus faecalis*;
- ✓ *Staphylococcus aureus*;
- ✓ *Salmonella typhimurium*.

Les huiles essentielles de *Phlomis crinita* étaient les meilleurs inhibiteurs de la prolifération de la bactérie Gram positif (+) que les bactéries Gram négatif (-).

3. L'espèce *Satureja calamintha* Scheele. (= *Calamintha officinalis* Moench, *Calamintha nepeta* L.)

3.1. Description morphologique

Satureja calamintha est une plante vivace qui ne dépasse pas les 40 cm. Les tiges sont molles et velues, elles portent des feuilles opposées, légèrement dentées, à pétiole moyen (Baba Aïssa, 1999). Inflorescences en cymes lâches et pédonculées, calice de restant tubuleux à maturité et corolles roses ou violacées, bien plus longues que le calice (Quézel et Santa, 1963), semblable à la menthe commune dans sa morphologie avec un parfum caractéristique (Verma *et al.*, 2011). Noms communs: Nabta (Quézel et Santa, 1963), Pouliot des montagnes (Baba Aïssa, 1999).

Le spécimen de *Satureja calamintha* récolté à Tessala a été comparé et confirmé avec celui de l'herbier de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc (Annexe 2).



Figure 2: Satureja calamintha Scheele. (Cliché TAMERT, Avril, 2014)

3.2. Distribution géographique

Le genre *Satureja* comporte plus de 30 espèces dont le centre de la distribution est situé dans la partie orientale du secteur méditerranéen (Šilić, 1984).

Satureja calamintha est une espèce très répandue autour de la région méditerranéenne, c'est également une espèce eurasiatique qui pousse spontanément en Italie et en Corse, qui se développe dans des régions arides, ensoleillées, pierreuses et rocheuses (Ristorcelli *et al.*, 1996 ; Fraternali *et al.*, 1998; Baldovini *et al.*, 2000). C'est une plante assez rare dans le Tell et surtout en montagne (Quézel et Santa, 1963).

3.3. Les composés chimiques

Le genre *Satureja* est caractérisé par la présence des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins, des acides phénols (acide rosmarinique, acide caféiques) et des saponines (Vârban *et al.*, 2009).

Les feuilles du genre *Satureja* contiennent des flavones lipophiles, 5,6,4'-trihydroxy-7,8,3'- triméthoxyflavone (thymonine), et 5,6,4'-trihydroxy-7,3'-diméthoxyflavone (Fransisco *et al.*, 1988).

L'huile essentielle de *Satureja calamintha* présente un polymorphisme chimique très important.

Les huiles essentielles de *Satureja calamintha* sont caractérisées par la présence du p-cymène (20,9 %), du γ -terpinène (18,7 %) et du thymol (34,9 %), ce sont des constituants chimiques majoritaires (Satrani *et al.*, 2001).

L'huile essentielle de *Satureja calamintha* du Maroc est composée principalement de bornéol (34,52 %), de α -campholenic aldéhyde (14,26 %), de cedren-13-ol (6,45 %), et de manoyloxyde (3,78 %) accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : diepicedrene-1-oxide (2,05 %), spathulenol (2,15 %), aristolene epoxide (2,42 %), et (-) spathulenol (2,63 %), totalisant 68,26 % (Ech-chahad *et al.*, 2013).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* due principalement à la présence du thymol, du carvacrol et de l' α -terpinéol (Satrani *et al.*, 2001 ; Gören *et al.*, 2004 ; Mihajilov-Krstev *et al.*, 2009).

3.4. Propriétés et usages

Satureja calamintha est largement utilisée par les populations de l'Algérie et du Maroc comme remède contre la toux et les infections respiratoires bénignes (Padrini, 1996). Cette plante stomachique, tonique, carminative, fébrifuge, sudorifique et expectorante (Baba Aïssa, 1999) possède aussi des propriétés antiseptiques et antispasmodiques (Lamendin, 2007 ; Perrucci *et al.*, 1994).

L'huile essentielle de cette plante possède une activité antimicrobienne (Panizzi *et al.*, 1993; Flamini *et al.*, 1999; Kitic *et al.*, 2002; Sarac et Ugur, 2009), activité antioxydante (Conforti *et al.*, 2012) et des activités anti-inflammatoires (Demirci *et al.*, 2011).

La tige feuillée de *Satureja calamintha* est utilisée en infusion dans du thé contre la fièvre, la grippe, les douleurs gastriques et comme rafraîchissant (Sijelmassi, 1993). L'huile essentielle de *Satureja calamintha* est dermocaustique (Hmamouchi, 2001).

4. L'espèce *Origanum vulgare* L.

4.1. Description morphologique

C'est un sous-arbrisseau vivace de 30 à 80 cm de hauteur (Arvy et Gallouin, 2007), courtement ramifiée au sommet, fortement aromatique, poilue (Debaisieux et Polese, 2009). *Tiges* dressées, à 4 angles peu marqués, rougeâtres, velues. *Feuilles* opposées, assez petites, brièvement pétiolées, ovales, entières ou légèrement denticulées, velues, surtout en dessous. *Fleurs* petites, bilabiées, d'un rose pâle. Groupées en inflorescences serrées à l'extrémité des rameaux. De nombreuses bractées ovales d'un rouge violacée y sont mêlées, donnant aux inflorescences un aspect caractéristique. *Floraison* de juillet-septembre. *Fruits* formés de 4 petits akènes. Partie souterraine : tiges souterraines développées reproduisant la plante (Couplan et Styner, 2009).

Le spécimen de *Origanum vulgare* récolté à Tessala a été comparé et confirmé avec celui de l'herbier de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc (Annexe 3).



Figure 3: *Origanum vulgare* L. (Cliché TAMERT, Mai, 2014)

4.2. Distribution géographique

C'est une herbe très commune distribuée en Europe, en Afrique du Nord, en Amérique et en Asie (Kintzios, 2002).

4.3. Les composés chimiques

Chez l'espèce *Origanum vulgare* les composés identifiés sont :

- **Les composés volatiles**
 - ✓ **Alcools aliphatiques** : Hexan-1-ol, *cis*-Hex-3-èn-1-ol, *trans*-Hex-3-èn-1-ol, Octan-3-ol, Oct-1-èn-3-ol.

- ✓ **Phénylpropanoïdes:** Alcool benzylique, Eugèneol, 2-phényléthanol, *o*-vanilline, *p*-vanilline.
- ✓ **Monoterpénoïdes:** carvacrol, Géraniol, Linalol, Nérol, *trans*-sabinène-hydrate, α -terpinéol, terpinène-4-ol, Thymol.
- ✓ **Sesquiterpénoïdes:** α -cadinol, *cis*-nérolodol (Kintzios, 2002).

- **Les dérivés phénoliques**

Les acides cinnamiques, acide rosmarinique, ursoliques, oléanoliques, lithospermiques B (et ses dérivés), caféiques, *p*-hydroxybenzoïques, vanilliques, syringiques, ou protocatéchiques,... (Venkateswara Rao *et al.*, 2011).

Liu *et al.* (2012) ont été observés trois nouveaux composés polyphénoliques : l'origanine, l'origanine-B et l'origanine-C.

- **Flavonoïdes**

L'apigénine, Quercétine, galangine, lutéoline, diosmétine, ériodictyol, chrysoériol, 7-O-glucoside d'apigénine, 7-O-glucoside-6"-méthylester de lutéoline, 7-O-glucoside de lutéoline... (Venkateswara Rao *et al.*, 2011).

- **Acides gras**

Les principaux acides gras sont de nature linoléique, linoléique, palmitique et stéarique (Azcan *et al.*, 2004).

Pour l'huile essentielle de *Origanum vulgare*, les deux composants majoritaires sont le Caryophyllène (14,4 %) et le spathulenol (11,6 %) (Şahin *et al.*, 2004).

4.4. Propriétés et usages

Cette herbe est répandue comme une épice et est également utilisée pour le traitement de la toux et les troubles digestifs (Yin *et al.*, 2012). Elle est connue aussi pour ses activités antifongiques et antibactériennes (Chun *et al.*, 2005; Hersch-Martínez *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2007), antioxydante (Lemhadri *et al.*, 2004; Şahin *et al.*, 2004), antiseptique (Saeed et Tariq, 2009), anti-lithiasique : elle inhibe l'agrégation des cristaux d'oxalate de calcium, protège les cellules épithéliales rénales et antispasmodique (Khan *et al.*, 2011).

Les feuilles donnent le « thé rouge », tonique et antitussif, qui calme les spasmes musculaires, maux de tête d'origine nerveuse et les douleurs menstruelles. Elles s'appliquent sur enflures, rhumatismes et torticolis. La saveur puissante et poivrée de l'origan est inséparable de la pizza italienne, et du bouquet garni (Bremness, 2007).

Toux, bronchite:

Infusion: jetez 1 cuillère à soupe de plante dans 1 tasse d'eau, pendant 10 min. prenez 2 ou 3 fois par jour.

Torticolis:

Application locale: hachez des sommités fleuries d'origan, de préférence fraîches, et chauffez-les dans une poêle. Posez-les chaudes sur le cou (Debaisieux et Polese, 2009).

Les feuilles et surtout les sommités fleuries parfument agréablement les plats mais il ne faut les ajouter qu'en fin de cuisson car elles perdent rapidement leur arôme (Couplan, 2007).

5. L'espèce *Mentha pulegium* L.

5.1. Description morphologique

Herbe vivace à tiges feuillées et fleuries presque à partir de la base, jusqu'au sommet; feuilles opposées, ovales lancéolées et munies d'un court pétiole; inflorescences en petits groupes de verticilles presque globuleux, plus ou moins espacés le long de la tige. Les fleurs, qui apparaissent l'été, de juillet à fin septembre, sont de couleur bleu violacé claire, rose ou mauve; son odeur aromatique rappelant la menthe poivrée (Baba Aissa, 1999; Gamisans et Jeanmonod, 1993).

La menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.), appelée localement « Fliou », est également appelée pouliot, pouliot royal, herbe aux puces, chasse puce, herbe de Saint Laurent. Elle pousse dans les lieux humides des plaines et des montagnes (Mossaddak, 1995).

Le spécimen de *Mentha pulegium* récolté à Tessala a été comparé et confirmé avec celui de l'herbier de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc (Annexe 4).



Figure 4: *Mentha pulegium* L. (Cliché TAMERT, Juillet, 2014)

5.2. Distribution géographique

Mentha pulegium est une espèce généralement connue sous le nom de pennyroyal. C'est une plante indigène de l'Europe, l'Afrique du Nord et dans l'Asie Mineure et le proche Orient (Chalchat *et al.*, 2000), assez commune surtout dans le Tell (Quézel et Santa, 1963).

5.3. Les composés chimiques

- Huile essentielle

Elle contient de la pulégone, de l'isopulégone, du menthol, du limonène... (Baba Aissa, 1999).

Le composant majoritaire de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* de l'Algérie est la pulégone (87,3%) (Beghidja *et al.*, 2007); de Bulgarie : la pulégone (42,9-45,4%) (Stoyanova *et al.*, 2005); d'Uruguay ; la pulégone (73,4%) et l'isomenthone (12,9%) (Lorenzo *et al.*, 2002); d'Egypte ; la pulégone (43,5%) et la piperitone (12,2%) (EL-Ghorab, 2006); de Tunisie : la pulégone (41,8%) et l'isomenthone (11,3%) (Mkaddem *et al.*, 2007). Ces études ont montré trois chémotypes de *Mentha pulegium* L. avec les principaux composants de l'huile : (1) la pulégone, (2) piperitenone et/ou piperitone et (3) isomenthone/neoisomenthol (Topalov et Dimitrov, 1969; cook *et al.*, 2007).

- **Dérivés d'acides hydroxycinnamiques** : ≈5%, composés surtout d'acide rosmarinique (≈ 3%) (Lamison *et al.*, 1990).
- **Flavonoïdes** : diosmine, hespéridine (List *et al.* 1980).
- **Tanins** (Baba Aissa, 1999).

5.4. Propriétés et usages

Les feuilles et les sommités fleuries de *Mentha pulegium* L. sont des antiseptiques et ont été employées pour le traitement du froid, de l'intoxication, de la sinusite, du choléra, de la bronchite et de la tuberculose (Zargari, 1990), elles sont aussi des antioxydants (EL-Ghorab, 2006).

Cette espèce est très utilisée pour soigner les rhumes, les maux de gorge, la toux et les infections pulmonaires; elle est aussi un excellent digestif (Bellakhdar, 1997 ; Hmamouchi, 2001).

L'huile essentielle de *M. pulegium* possède une activité antibactérienne (Derwich *et al.*, 2010; Hajlaoui *et al.*, 2009; Mahboubi et Haghi, 2008).

L'odeur agréable du pouliot semble déplaire à certains parasites, et son pouvoir insecticide est bien établi. Autrefois, on se brûlait dans des locaux infestés par les puces, et on l'utilisait aussi sous forme de lotion, sur le pelage des animaux domestiques pour les débarrasser de ces nuisibles parasites (Baba Aissa, 1999).

La menthe pouliot est surtout employée en Italie, par exemple pour agrémenter les farces et les pâtés relevés. Elle est également recommandée pour assaisonner le boudin ou les saucisses aux herbes (Callery, 1997 ; Norman, 1998 ; Seidemann et Würzmittel-Lexikon, 1997)!

En Algérie on l'apprécie beaucoup, si bien qu'on s'en sert pour préparer un plat traditionnel: le ragoût de pomme de terre au pouliot « *batatafliou* » (Baba Aissa, 1999).

6. L'espèce *Thymus serpyllum* L.

6.1. Description morphologique

Sous arbrisseaux de 5 à 20 cm à base ligneuse souvent gazonnant, très aromatique. Tige couchée, rampante portant des pousses dressées ligneuses, petites feuilles opposées, presque dépourvue de pétioles, arrondies ou linéaires (Beauvais, 2000). Les fleurs, roses ou blanches, sont petites et irrégulières (zygomorphes), à calice poilu polymorphe (Arvy et Gallouin, 2007).

Le spécimen de *Thymus serpyllum* récolté à Tessala a été comparé et confirmé avec celui de l'herbier de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc (Annexe 5).



Figure 5: *Thymus serpyllum* L. (Cliché TAMERT, Avril, 2014)

6.2. Distribution géographique

Thymus serpyllum est indigène en Europe méditerranéenne et en Afrique du Nord, localisée aux altitudes élevées et naturalisé dans l'Amérique du Nord. Elle est originaire des régions tempérées des Balkans, du Maroc et de l'Espagne (Teuscher *et al.*, 2005).

6.3. Les composés chimiques

- **Huile essentielle**

Les principaux constituants sont : Thymol, γ -Terpinene, p-Cymene (Rasooli I, Mirmostafa, 2002; Nikolić *et al.*, 2014).

- **Phénols totaux**

n-propyl rosmarinate, acide rosmarinique, methyl rosmarinate, et l'acide cafféique (Aziz *et al.*, 2014).

- **Flavonoïdes**

Acacétine, Genkwanine, Hispiduline, Xanthomicrol, Scutellareine, Lutéoline, Thymonine, 8-methoxycirsilinéol, Quercétine (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

6.4. Propriétés et usages

Thymus serpyllum est reconnue pour son usage dans divers remèdes traditionnels : antiseptique, antispasmodique, carminatif, digestif, diurétique,

expectorant, vermifuge. Usages internes contre la bronchite et la congestion pour calmer la toux et comme désinfectant de l'appareil digestif.

Usages externes pour baigner les plaies guérissant mal et en gargarismes, contre les inflammations des gencives (Beauvais, 2000; Pirbalouti *et al.*, 2013).

Elle traite les affections bucco-dentaires : algie dentaire, aphtes, hémorragie, gingivite, herpès labial, mauvaise haleine, stomatite (Hadouche, 2000) et les maladies du système digestif et du système respiratoire (Zeggwagh *et al.*, 2013).

Le thym serpolet sert spécialement dans les pays méditerranéens pour aromatiser certains mets de viande, les farces pour poisson et volaille, les soupes, les sauces brunes, les salades de crudités et les pommes de terre rôties (Loziene *et al.*, 1998; Stahl-Biskup, 1991; Mikus et Zobel, 1996; Oszagyan *et al.*, 1996; Matissek et Wittkowski, 1992).

7. L'espèce *Thymus vulgaris* L.

7.1. Description morphologique

C'est une plante très aromatique de 7 à 30 cm de hauteur à tiges cylindriques ligneuses. Ses feuilles sont très petites, ovales, lancéolées, à bord roulés en dessous. Les fleurs sont roses à blanches, de 4 à 6 mm de longueur (Fernandez, 2003).

Thymus vulgaris se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines (Kaloustian *et al.*, 2003). Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Poletti, 1988).

Le spécimen de *Thymus vulgaris* récolté à Tessala a été comparé et confirmé avec celui de l'herbier de l'Institut Scientifique de Rabat, Maroc (Annexe 6).



Figure 6: *Thymus vulgaris* L. (Cliché TAMERT, Juin, 2014)

7.2. Distribution géographique

Thymus vulgaris est une herbe éternelle indigène de la région méditerranéenne occidentale et en Italie méridionale (Özcan et Chalchat, 2004; Amiot, 2005). Elle est maintenant cultivée partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (Kitajima *et al.*, 2004).

7.3. Les composés chimiques

Thymus vulgaris est très riches en constituants:

- **Huile essentielle**

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton, 1999); 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4-58,1 %), p-cymène (9,1-18,5 %), γ -terpinène (6,9-18,0 %), carvacrol (2,4-4,2 %), linalol (4,0-6,2 %). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol (Guillén et Manzanos, 1998; Balladin et Headley, 1999; Hudaib *et al.*, 2002; Bouhdid *et al.*, 2006).

- **Phénols totaux**

Acide rosmarinique, Acide caféique, Acide p-hydroxybenzoïque (Kulišić *et al.*, 2006).

- **Flavonoïdes**

Acacétine, Hispiduline, Cirsimaritine, Xanthomicrol, Scutellarine, Cirsilinéol, Thymonine, 8-méthoxycirsilinéol, Kampférol, Quercétine, Rutine (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

- **Vitamines**

La composition en vitamines révèle la présence de la vitamine E (α -tocophérol) (4,4 mg/Kg) (Guillén et Manzanos, 1998).

- **Monoterpènes**

(R)-p-cymen-9-yl beta-D-glucopyranoside, 2- β -D-glucopyranosylthymoquinols, 5- β -D-glucopyranosylthymoquinols, (-)-angelicoidenol-beta-D-glucopyranoside (Takeuchi *et al.*, 2004).

Chez *Thymus vulgaris* de la Méditerranée occidentale on trouve sept chimiotypes différents (à thymol, à carvacrol, à géraniol, à linalol, à terpinéol, à trans-4-thuyanol, à cis-8-myrcénol et à cinéol) (Bruneton, 1999).

7.4. Propriétés et usages

Thymus vulgaris est largement répandue dans la médecine traditionnelle dans les traitements des gastroentérites et les affections broncho-pulmonaires. Elle possède aussi de nombreuses activités biologiques, antiseptique, antispasmodique (Vanaclocha et Cañigüeral, 2003), expectorant, diurétique, stomachique,

vermifuge (Hmamouchi, 1999), antioxydante (Viuda-Martos *et al.*, 2010) et antimicrobienne (Kon et Rai, 2012).

Elle est utilisée pour le traitement des Parodontopathies : tuméfaction gingivale (77,7%), mauvaise haleine (63,1%) et saignement, gingival (75,7%) (Guessous, 2013) et contre les maladies du système digestif, respiratoire et du système cardio-vasculaire et les maladies rhumatologiques (Zeggwagh *et al.*, 2013).

De plus, son huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Jordán *et al.*, 2006).

L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des potages et des légumes (Özcan et Chalchat, 2004).

Chapitre II

Métabolites secondaires

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et la performance des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Hartmann, 2007).

- Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques.

- Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures.

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, et ont des intérêts multiples. Ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires.

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la hémisynthèse de composés actifs.

Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes (Epifano *et al.*, 2007).

On rencontre des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. Parmi les principales familles de métabolites secondaires des plantes, on distingue:

1. Les composés phénoliques

1.1. Structure et catégories des composés phénoliques

Structuralement, les composés phénoliques comprennent un noyau aromatique, qui possède un ou plus de substituant hydroxylé. Ce dernier conduit les composés phénoliques simples à se polymériser pour obtenir des phénols complexes ou polymérisés; ce groupe est connu sous le nom: des *Polyphénols*. Ces composés peuvent se regrouper dans plusieurs classes (Nagendran, 2006).

Tableau 2: Classes des polyphénols (Nagendran, 2006)

Classes	Structure
Phénols simples, benzoquinones	C6
acide hydroxybenzoïque	C6-C1
acétophénone, acide phénylacétique	C6-C2
acide hydroxycinnamique, phénylpropanoïdes (coumarines, isocoumarines, chromones)	C6-C3
flavonoïdes, isoflavonoïdes	C6-C3-C6
lignanes, néolignanes	(C6-C3)*2
biflavonoïdes	(C6-C3-C6)*2
tannins condensés (proanthocyanidines, ou flavolans)	(C6-C3-C6)*n

1.1.1. Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes des acides phénoliques (Nagendran, 2006):

- **Les dérivés de l'acide benzoïque (Les hydroxybenzoïques)** : qui inclut plusieurs molécules dont les plus fréquentes sont; L'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide syringique et le p-hydroxybenzoïque. Ces composants ont une structure de C6-C3 en commun.
- **Les dérivés de l'acide cinnamique (Les hydroxycinnamiques)** : Ces molécules possèdent un cycle aromatique avec 3 carbones en plus C6- C3; comme l'acide caféique, l'acide férulique, p-coumarique et l'acide sinapique.

La concentration de l'acide hydroxy-benzoïque est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux des acides hydroxycinnamiques sont très présents (Fleuriet *et al.*, 2005).

1.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme des composés naturels considérés comme des pigments universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleurs vives de fleurs, des fruits et des feuilles (Pietta, 2000 ; Gherida, 2005) aussi ils s'assurent la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (Hadi, 2004).

1.1.2.1. Structure

Ces molécules ont un poids moléculaire faible, représentées par 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C6-C3-C6 composés de deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle C (Nagendran, 2006).

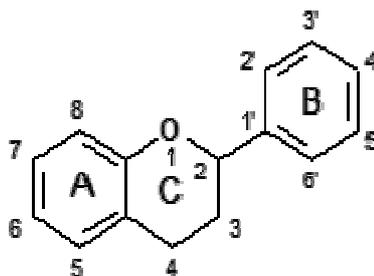
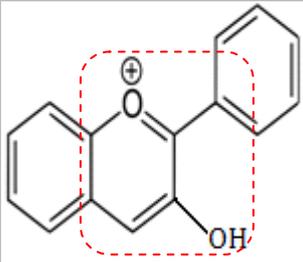
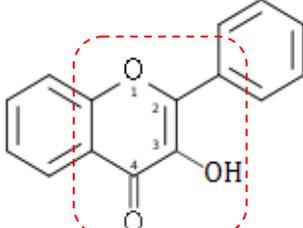


Figure 7: Structure nucléaire des flavonoïdes (Bruneton, 2009)

Les substitutions variées au sein de l'hétérocycle C donnent les différentes sous-classes des flavonoïdes (tableau 2).

Tableau 3: Structures générales des hétérocycles des flavonoïdes (Sarni- Machado et Cheynier, 2006)

Sous classe	Structure	Flavonoïdes typiques
Flavanols		Catéchine (-)-Épicatéchine Gallocatechine
Flavones		Lutéoline Apigénine
Flavanones		Naringinine Eriodictyol
Isoflavones		Daidzéine Formononétine Génistéine Glycitéine

Anthocyanidines		Cyanidine Pélagonidine Delphinidine
Flavonols		<u>Azaléatine</u> <u>Fisétine</u> <u>Galanine</u>

1.1.2.2. Localisation et usage

Les flavonoïdes comprennent certaines molécules hydrosolubles. On les trouve dans les fruits et les légumes. Certains repoussent les herbivores et empêchent les attaques bactériennes. De nombreux flavonoïdes, comme le *lycopène* dans les tomates, et les *procyanidines* dans les pommes, le raisin et les fraises sont utilisés en médecine pour la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires, ainsi que comme des agents antiviraux. D'autres sont utilisés pour leur saveur ou leur parfum, comme dans le poivre noir, les clous de girofle, le gingembre, la vanille, la cannelle et le sirop d'érable. Des flavonoïdes appelés anthocyanes donnent une couleur rouge, bleu ou pourpre à certaines fleurs qui attirent les insectes pollinisateurs et d'autres organismes (Nabors, 2009).

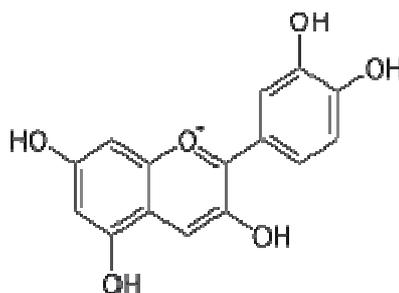


Figure 8: La Cyanidine, flavonoïde responsable de la coloration des roses et d'autres fleurs (Sarni- Manchado et Cheynier, 2006)

1.1.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques d'origine végétale, qui partagent la capacité de tanner les protéines. Après la cellulose, la lignine et les hémicelluloses, ils forment avec leurs dérivés la quatrième famille de composés par ordre d'abondance dans les plantes et, de là, dans les écosystèmes terrestres où domine la biomasse végétale morte ou vive. Disposés dans les vacuoles et les parois, ils représentent de 15 à 25% du poids sec de la plante (jusqu'à 40% dans

l'écorce et 50% dans certaines galles). Souvent difficiles à dégrader, ils constituent 1 à 4% de l'humus et sont surtout recyclés par des champignons (Krauss *et al.*, 2003)

1.1.3.1. Classification

Les tannins se repartissent en 2 sous groupes; les *tannins hydrolysables* et les *tannins condensés*. Les premiers sont des esters de l'acide gallique (gallo et ellagi tannins).

1.1.3.1.1. Les tanins condensés

Les tannins condensés sont des polymères (d'où leur nom) de dérivés de résidus flavonols (figure 9a) liés par des liens C-C (un exemple en figure 9b, mais de nombreuses autres combinaisons existent); ils sont produits par la plupart des végétaux terrestres.

1.1.3.1.2. Les tanins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester (donc hydrolysable). Si le phénol est l'acide gallique, ce sont les *gallitannins* (figure 9c); s'il s'agit de l'acide hexa-hydroxy-diphénique, ce sont les *ellagitannins* (figure 9d).

Les oxydations et les polymérisations engendrent des structures variées. On trouve les tannins hydrolysables chez les dicotylédones.

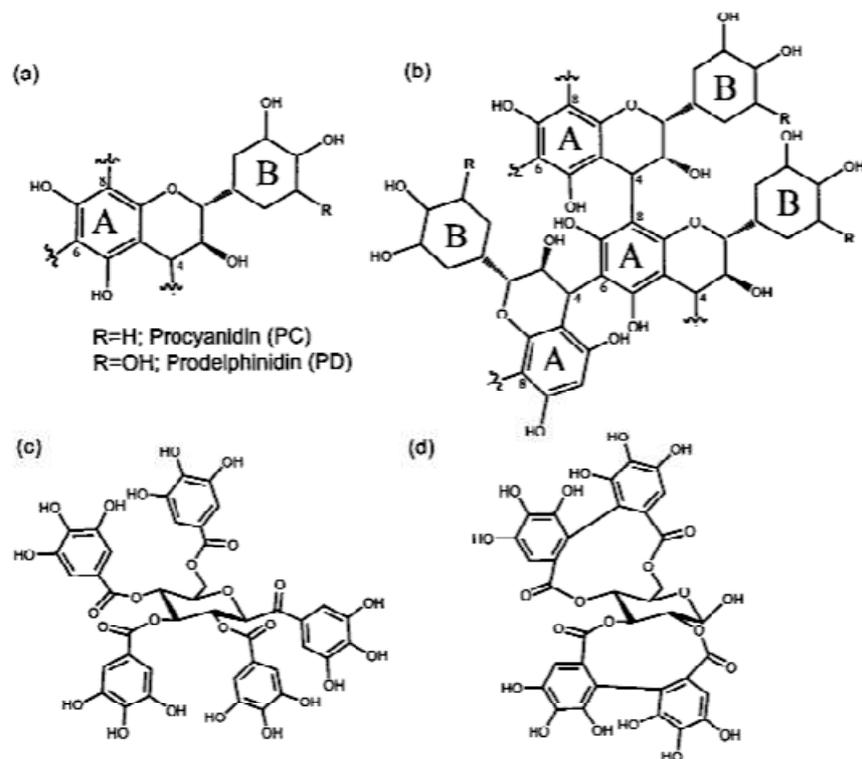


Figure 9: Structure des tanins condensés (a), un exemple de tanins condensés (b), gallitannins (c), et structure des ellagitannins (d) (Krauss *et al.*, 2003)

1.1.3.2. Distribution et localisation des tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins, mais les concentrations de ces tanins sont élevées pour les plantes tropicales à cause de la synthèse favorisée par la lumière (Makkar et Becker, 1998).

Les tannins condensés sont synthétisés dans le réticulum endoplasmique et sont accumulés dans la vacuole, sur la paroi de l'endoderme et sur la membrane cellulaire du phloème (Stafford, 1990; Mc Allister *et al.*, 1994; Mc Kenzi et Peterson, 1995).

1.1.4. Les lignines

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les alcools *p*-coumarique, coniférique et sinapique (Jutiviboonsuk *et al.*, 2005).

1.1.5. Les coumarines

Historiquement, la coumarine tire son nom de « kumaru » d'une langue amérindienne, qui représente le nom d'un arbre poussant en Amérique du sud donnant la fève tonka (*Coumarouna odorata*). Cette molécule fut isolée pour la première fois en 1820 par Vogel (George, 1995).

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (Figure 10). Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes. Dans les plantes, on les rencontre chez les apiacées, les astéracées, les fabacées, les rosacées, les rubiacées, les rutacées et les solanacées (Sakagami *et al.*, 2005).

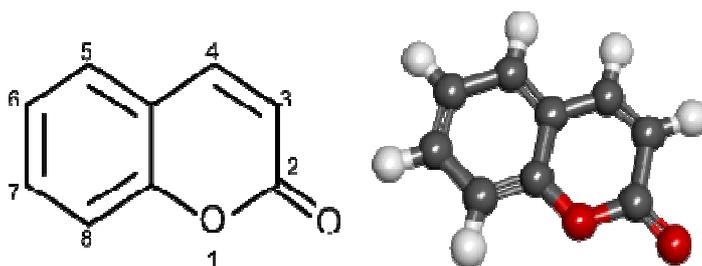


Figure 10: Structure chimique de benzo-2-pyrone

1.1.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (Guignard, 1996).

Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (Harbone, 1967; Brouillard, 1986). Leur présence dans les

plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau (Harbone et Grayer, 1988).

En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle.

1.2. Rôle et propriétés biologiques des composés phénoliques

1.2.1. Les propriétés biologiques des polyphénols

1.2.1.1. Propriété antioxydante

C'est la capacité de capter ou de piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant. Les flavonoïdes ont la capacité de piéger les radicaux libres, comme les radicaux peroxy lipidiques qui favorisent le vieillissement cellulaire (Van Acker *et al.*, 1996).

1.2.1.2. Activité antibactérienne

De nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes gram négatif (*Escherichia coli...*) et gram positif (*Staphylococcus aureus...*) (Katarzyna *et al.*, 2007).

L'effet antimicrobien des produits polyphénoliques est dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des microorganismes, qui en résulte une altération de la perméabilité de la membrane et la perte de ses organites intracellulaires. En plus, des caractéristiques physicochimiques des composés polyphénoliques (la solubilité dans l'eau et la lipophilie) peuvent influencer cet effet antibactérien (Domineco *et al.*, 2005).

1.2.1.3. Autres propriétés biologiques

1.2.1.3.1. Propriétés anti-inflammatoires

Les flavonoïdes, notamment les flavonols peuvent prévenir la douleur musculaire en inhibant la synthèse de l'oxyde nitrique qui est déclencheur chimique de l'inflammation (Lahlah, 2008).

1.2.1.3.2. Propriété préventive des maladies cardio vasculaires

Les flavonoïdes inhibent l'oxydation des lipoprotéines qui est la cause des atteintes dues à l'accumulation de dépôts lipidiques (essentiellement le cholestérol) dans les vaisseaux sanguins (Fuorocci, 2006).

L'effet des flavonoïdes réside de leurs capacités à diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leurs résistances (Lahlah, 2008).

1.2.1.3.3. Propriétés anti cancérogènes

Les polyphénols ont un effet hépatoprotecteur sur les dommages causés sur l'ADN des cellules hépatiques par divers composés hépatotoxiques et carcinogènes (Delgado *et al.*, 2008).

1.2.1.3.4. Propriétés préventives des flavonoïdes contre les ulcères

La quercétine qui est un flavonol joue un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques (Di Carlo *et al.*, 1999).

1.2.1.3.5. Propriétés des flavonoïdes vis-à-vis des allergies

L'action pharmacologique de ces molécules suggère qu'elle pourrait présenter un intérêt dans le traitement des inflammations allergiques (Park *et al.*, 2008).

1.2.2. Rôle physiologique des polyphénols

1.2.2.1. La lutte contre les agents pathogènes

Les polyphénols ont un rôle important dans la défense de la plante contre les bactéries, les champignons et d'autres conditions de l'environnement notamment les stress comme l'élévation de la température (Piquemal, 2008).

Le mécanisme de défense des polyphénols lors de l'attaque d'un pathogène est élucidé par des expériences déjà faites sur des espèces d'arbre qui est résumé comme suit :

- Une fois le pathogène a pu s'intégrer à l'intérieur de l'hôte, ceci aboutit à la mise en place d'un épiderme interne délimitant une zone périhaustoriale. Dans cette région s'accumulent des polyphénols et plus particulier des flavonoïdes.
- Dès ce stade, s'installe une compétition entre deux phénomènes qui sont d'une part la force de pénétration du pathogène ; cela est lié à la capacité et l'intensité prolifératrices de ses cellules et d'autre part les capacités de synthèse des flavonoïdes par les cellules de l'hôte. Si c'est la force de pénétration du pathogène qui l'emporte, celui-ci envahit rapidement les tissus de l'hôte. Dans le cas contraire, les capacités de synthèse des polyphénols qui l'emportement, ils s'accumulent dans la zone périhaustoriale et forment un manchon qui isole totalement ce pathogène. Ce dernier se trouve bloqué dans sa progression. Par la suite, d'autres systèmes de défense interagissent pour l'élimination totale du pathogène (Lepoivre, 2003).

1.2.2.2. La couleur de la plante

La coloration des organes de la plante (fleurs, fruits, et feuilles) est due à la présence des substances organiques colorantes; qui absorbent seulement certaines longueurs d'onde de la lumière et émettent celle que nous percevons comme la couleur des fleurs.

Ces pigments sont essentiellement la chlorophylle, les polyphénols (flavonoïde, acides phénol, ...), les caroténoïdes... (Piquemal, 2008).

1.2.2.3. L'astringence et le goût

L'astringence est la sensation tactile provoquée par l'ingestion de nombreux aliments, du cacao au thé, du vin rouge aux noix.... Derrière cette perception de râpeux ou de sécheresse, se cachent des *polyphénols*. Il s'agit plus précisément des tannins condensés, des polymères de flavanols qui contribuent aussi à cette amertume.

D'un point de vue chimique, ces polyphénols provoquent la précipitation des protéines salivaires, entraînant avec elles leur cortège de molécules d'eau qui lubrifient alors la muqueuse buccale (Guggenbühl, 2003).

2. Les alcaloïdes

Ce sont les principaux métabolites secondaires azotés. On en connaît environ 12000, synthétisés à partir des acides aminés. Ils sont constitués d'un hétérocycle et présentent des propriétés hydrophiles et alcalines. Leur stockage se fait dans les vacuoles, parfois les laticifères. Ils ont notamment un rôle de défense contre les herbivores, mais pour leur usage pharmacologique leur toxicité est contrôlée (cas de la morphine, de la codéine, de la quinine, de la nicotine et de la caféine (figure 11)). (Meyer *et al.*, 2008).

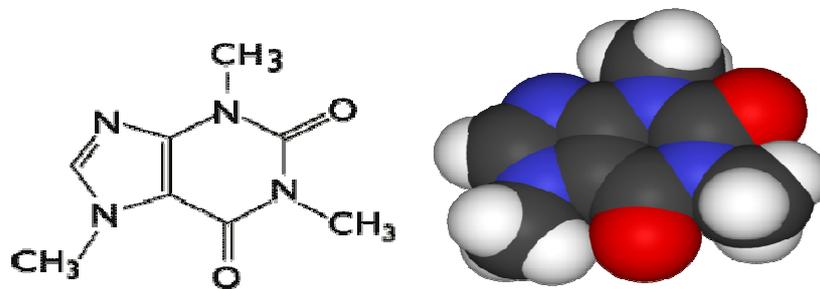


Figure 11: Structure du Caféine

3. Les terpènes

Les terpènes (=terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, impliqués ou non dans des fonctions métaboliques essentielles. L'étude de leur métabolisme connaît un regain d'intérêt par suite du développement des méthodes analytiques auxquelles est venu s'ajouter l'outil moléculaire. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnue par Wallach dès 1887. Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent:

- ✓ Monoterpènes ($C_5 \times 2$)
- ✓ Sesquiterpènes ($C_5 \times 3$)

- ✓ Diterpènes ($C_5 \times 4$)
- ✓ Triterpènes ($C_5 \times 3$) + ($C_5 \times 3$)
- ✓ Tétraterpènes ($C_5 \times 4$) + ($C_5 \times 4$)

Ainsi, les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable. Ils représentent la majorité des constituants des huiles essentielles (Goldstein et Brown, 1990; Colby *et al.*, 1993).

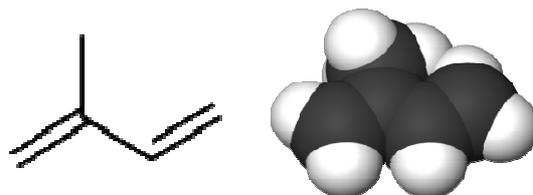


Figure 12: Structure chimique de l'isoprène

4. Les stérols et les stéroïdes

Dans la classification de l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), les stéroïdes constituent une catégorie incluant les stérols. Les stéroïdes incluent tous les lipides possédant un noyau cyclopentanophénanthrénique ou dérivant de celui-ci. Toutefois, l'IUPAC précise que les stérols sont des stéroïdes se caractérisant par la présence d'un groupe hydroxyle OH sur le carbone C3 (par exemple, le cholestérol (figure 13)). En revanche, pour plusieurs biochimistes, les «stérols constituent une catégorie à part entière incluant les «stéroïdes», cholécalférol, les acides biliaires, les stéroïdes conjugués, les hopanoïdes.

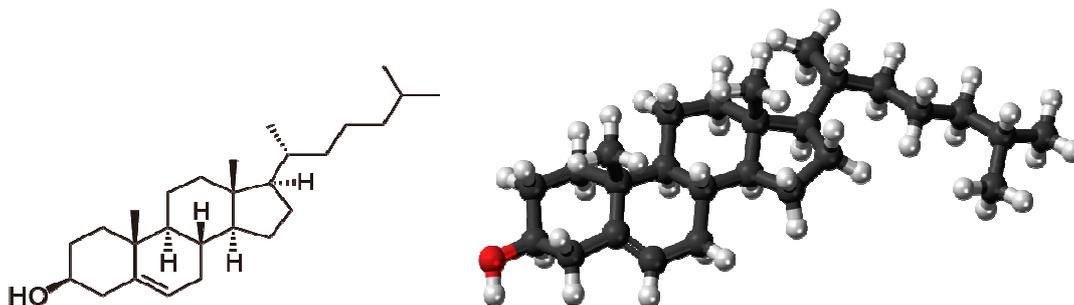


Figure 13: Structure du cholestérol

5. Les saponines

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, une saponine est un glycoside de stéroïde ou

de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïques et les saponines triterpéniques dérivant tous deux biosynthétiquement de l'oxyde de squalène (Manach *et al.*, 2004).

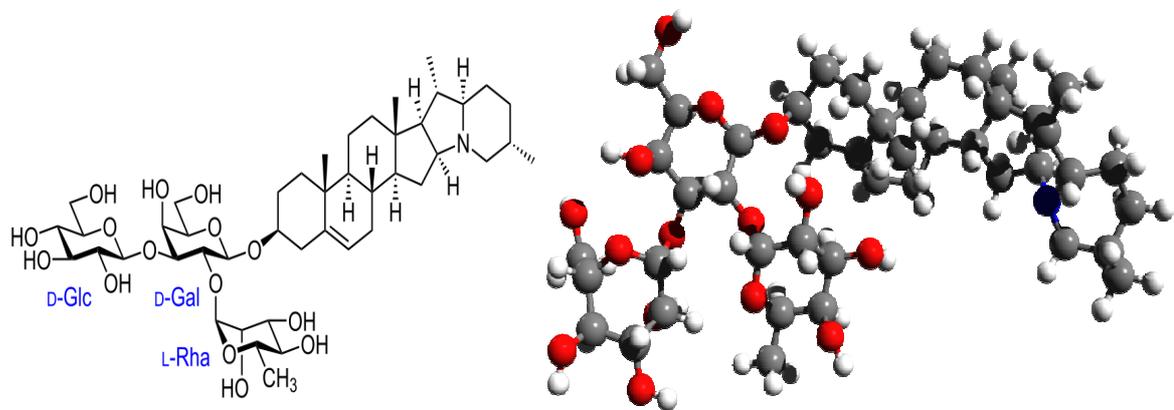


Figure 14: *La solanine, une saponine rencontrée chez toutes les Solanaceae.*

Chapitre III

Activité biologiques

1. Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques

La **phytothérapie** est un mot d'origine grecque: « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes: en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes...) (Gazengel et Orecchioni, 2013).

L'**aromathérapie** est une branche de la phytothérapie, elle recourt aux extraits aromatiques des plantes (essences et huiles essentielles). Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante (Lorrain, 2013).

Les végétaux peuplaient la planète bien avant l'homme et ont d'abord servi à le nourrir via la cueillette puis la culture (Lorrain, 2013). Leur emploi a rapidement évolué en constatant leurs propriétés thérapeutiques pour traiter les blessures et les maladies. L'utilisation des arômes était également connue des civilisations de l'antiquité pour des usages religieux, cosmétiques mais aussi thérapeutiques (Lardry et Haberkorn, 2007). Ce sont les égyptiens, 3150-1085 avant Jésus-Christ, de l'époque pharaonique, qui furent les premiers à avoir recours aux plantes aromatiques pour embaumer les morts, avec notamment un mélange d'huiles essentielles comme l'huile de cèdre, de basilic (Franchomme et al., 1990 ; Abrassart, 1997), et en utilisant des plantes aux propriétés antiseptiques connues comme le nard de l'Himalaya, la cannelle, le ciste, des produits de sécrétion aromatique comme l'encens ou la myrrhe (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). En Grèce antique, Hyppocrate indiquait les bains aromatiques dans le traitement des maladies de la femme (Lardry et Haberkorn, 2007). Les arabes ont ainsi poursuivi les recherches sur les plantes médicinales en devenant les premiers à mettre au point la distillation des plantes, permettant d'en extraire l'huile essentielle, il y a de cela plus de mille ans (Nogaret-Ehrhart, 2008).

Les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie nous montre que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité (Gurib-Fakim, 2006).

2. Activité antimicrobienne

2.1. Les antibiotiques

2.1.1. Généralités

Les antibiotiques sont produits par un large éventail des organismes vivants tels que : les champignons, les bactéries, les végétaux supérieures et aussi par la synthèse chimique à partir des molécules naturelles. Ils inhibent ou tuent à faibles concentrations spécifiquement des microorganismes (Marinelli, 2009 ; Labayle, 2001; Gherib, 1983; Yala *et al.*, 2001). Un grand nombre d'antibiotiques a été identifié en milieu naturel, mais moins de 1% sont médicalement utiles. Beaucoup d'antibiotiques naturels ont été structuralement modifiés en laboratoire pour augmenter leur efficacité formant la classe des antibiotiques semi-synthétiques (Madigan et Martinko, 2007).

L'histoire des antibiotiques a débuté avec la découverte de la pénicilline (produite par un champignon, *Penicillium notatum* par Fleming en 1940. Depuis, les activités antimicrobiennes des antibiotiques produits par les microorganismes ont été considérablement étudiées, les recherches entreprises ont permis de compléter l'arsenal antibactérien mis à la disposition des médecins et du grand public. Des microorganismes producteurs de chloramphénicol, de néomycine, de tétracycline et de terramycine furent isolés dès 1953. La découverte des agents chimio thérapeutiques et le développement de nouveaux médicaments plus puissants ont révolutionné la médecine moderne et ont fortement diminué la souffrance humaine (Prescott *et al.*, 2007).

Tableau 4: Nombres des antibiotiques produits par différents groupes d'organismes (Kieser *et al.*, 2000)

Source	Antibiotiques
Non-actinomycètes	1400 (12%)
Actinomycètes	7900 (66%)
Champignons	2600 (22%)
Total (microorganismes)	11900 (100%)
Lichens	150
Algues	700
Plantes supérieures	5000
Animaux terrestres	500
Animaux marins	1200
Total (organismes supérieurs)	7500

2.1.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'activité, charge électrique, composition chimique et caractère de résistance bactérienne (Yala *et al.*, 2001; Neuman, 1979).

On peut regrouper les antibiotiques selon quatre niveaux d'action sur les bactéries (A, B, C, D):

Tableau 5: Classification des antibiotiques selon le mécanisme d'action (Institut Pasteur, 2008)

Groupe	Antibiotiques	Mode d'action
A	Bacitracine Fosfomycine Glycopeptides (Vacomycine, Feicomycine) Les bêtas lactames (Pénicillines, Céphalosporines, Monobactames, Carbapénames)	La paroi La paroi bactérienne a une structure différente selon les bactéries à "Gram positifs" ou "Gram négatifs". Chez les bactéries à Gram négatif, les antibiotiques doivent franchir la membrane externe hydrophobe.
B	Quinolones Rifamycine Nitro-imidazoles Sulfamides Triméthoprime	La topologie de l'ADN et sa transcription en ARN Des antibiotiques agissent en désorganisant l'information génétique située en amont de la synthèse des protéines.
C	Macrolides Lincosamides Synergistines Tétracyclines Aminosides Chloramphénicol Acide fusidique.	La traduction de l'ARN en acides aminés, puis leur assemblage en protéines
D	Polymyscines	La membrane interne

Les modes d'action des antibiotiques, déjà décrits dans le tableau antécédent peuvent être schématisés comme suit:

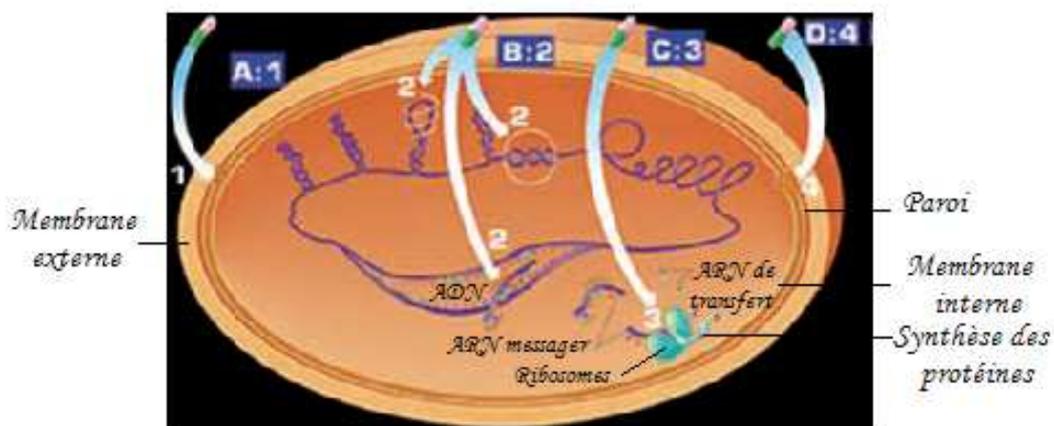


Figure 15: Modes d'action des antibiotiques

2.1.3. Utilisation des antibiotiques

L'usage extensif des antibiotiques est la cause majeure d'apparition des résistances. Au départ, ce sont des molécules naturelles, cependant, des modifications chimiques sont souvent apportées pour améliorer l'activité et modifier des paramètres pharmacocinétiques essentiels.

Aujourd'hui, la plupart des antibiotiques en usage clinique sont obtenus par semi-synthèse. Récemment, les progrès de la chimie ont permis de réaliser dans des conditions économiques satisfaisantes la synthèse totale de plusieurs d'entre eux.

Une nouvelle famille d'antibiotiques dérivés de l'érythromycine (produit par la bactérie *Streptomyces erythreus* telle que l'azithromycine et la josamycine ont été récemment développée dans le but d'améliorer le spectre antimicrobien et de chercher de nouveaux antibiotiques non familiers avec les bactéries usuelles pour éviter la résistance des bactéries aux antibiotiques, l'azithromycine (zithromax) est parmi les antibiotiques issus de la synthèse totale et a été considéré comme le plus efficace actuellement (Benarous *et al.*, 1999).

2.2. Les antifongiques

2.2.1. Généralités

La découverte de la nystatine en 1950 par Hazen et Brown, qui est un polymère à activité antifongique, a ouvert l'ère de l'antibiothérapie antifongique (Drouhet *et al.*, 1978).

Les substances antifongiques sont actuellement utilisées dans trois domaines principaux:

- En thérapeutique humaine et vétérinaire (antifongiques systémiques ou topiques)
- Dans l'industrie alimentaire (conservateurs)
- En alimentation animale, pour la prévention et le traitement des atteintes fongiques des plantes, du bois de construction ou d'autres matériaux.

2.2.2. Classification des antifongiques

Les antifongiques sont classés :

A: selon l'origine et la structure

Les substances antifongiques sont soit des produits du métabolisme secondaire de divers microorganismes, soit des produits chimiques de synthèse (Bastide *et al.*, 1986).

Malgré la recherche permanente de nouvelles cibles cellulaires, la réserve thérapeutique disponible pour lutter contre les infections fongiques est

relativement limitée puisque seules quatre classes de molécules, ciblant trois voies métaboliques distinctes, sont utilisées aujourd'hui en clinique :

- Les fluoropyrimidines
- Les polyènes
- Les dérivés azolés
- Les échinocandines (Vandeputte, 2008).

B: Mode d'action

Les différents modes d'action sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6: Classification des antifongiques selon la cible (Geursen *et al.*, 2008).

Structure	Mode d'action	Exemples
Polyènes	Rupture de la membrane	Amphotéricine nystatine
Azolés	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Imidazoles Ketonazole Triazoles fluconazoles Itraconazole
Allylamines	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Terbinafine Butenafine
Pyradone	Rupture de la membrane et de la paroi	Ciclipirox olamine
Morpholine	Inhibition de la synthèse de l'ergostérol	Amorolfine
fluoropyrimidines	Inhibition de la synthèse de thymidylate	Flucytosine
Echinocandine	Inhibition de la synthèse du glucane	Caspofungine Anidulafungine
Autres	Anti-mitotique, rupture du fuseau cellulaire	Griséofulvine

2.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques

Après une période de forte efficacité contre les maladies infectieuses, les antibiotiques se présentent de moins en moins efficaces face à certaines infections bactériennes. Dès 1940, juste après la découverte de la pénicilline, Abraham et Chain avaient mis en évidence l'existence de résistance à cet antibiotique chez *Escherichia coli* (Abraham et Chain, 1940). Les bactéries s'adaptent aux antibiotiques et deviennent résistantes.

La résistance aux antibiotiques est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme. C'est la capacité pour une souche bactérienne de croître en présence d'une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe la croissance de la majorité des souches appartenant à la même espèce. Plusieurs études ont établi que l'apparition de la résistance est associée d'une part, à la surconsommation d'antibiotiques et

d'autre part, à des traitements trop courts ou trop longs parfois mal dosés (Kiouba, 2003).

La résistance aux antibiotiques peut impliquer l'un des mécanismes suivants :

- **La mutation** : une mutation peu modifier le site de fixation de l'antibiotique, de sorte que celui-ci ne s'y lie pas. La cible (par exemple une enzyme) reste alors fonctionnelle en présence de concentrations de cet antibiotique, qui autrement seraient inhibitrices.
- **L'inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes**.
- **Les mécanismes d'efflux** : certains systèmes de transport sont capables de pomper vers l'extérieur à travers la membrane cytoplasmique ou l'enveloppe cellulaire, des antibiotiques particuliers.
- **La diminution de la perméabilité** : tout changement dans la composition de l'enveloppe cellulaire, qui fait un obstacle à l'absorption d'un antibiotique donné.
- **L'augmentation de la synthèse du métabolite cible** : la production accrue d'un métabolite donné peut vaincre l'inhibition compétitive exercée par un antibiotique.
- **L'acquisition d'un déterminant de résistance exogène** : des gènes spécifiant une résistance à un ou à plusieurs antibiotiques peuvent être acquis par transformation, conjugaison, transposition conjugative ou transduction (Singleton, 2005).

2.4. Les méthodes d'étude des tests antimicrobiens

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur (Suhr et Nielsen 2003).

Les méthodes d'évaluation les plus utilisées sont la *méthode de diffusion* et la *méthode de dilution*. Ces différentes techniques sont répertoriées et décrites dans différentes publications (Lahlou 2004; Bosio et al., 2000).

2.4.1. Méthode de diffusion

La méthode de diffusion permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis-à-vis des extraits donnés. Elle peut être aussi adaptée pour tester d'autres agents antimicrobiens. La méthode de dilution consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable (10-25ml), déjà solidifié et inoculé par la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre ou Wattman (6-8mm), préalablement imprégnés de quantités connues d'extrait, sont alors placés en surface de la gélose. Généralement, les micro-organismes seront classés sensibles (S), intermédiaires (I) ou résistants (R), selon le diamètre de la zone d'inhibition (Wilkinson, 2006). Une autre technique de diffusion sans disque consiste en l'aménagement d'une cavité dans la gélose.

Cette cavité est ensuite remplie d'un volume donné d'extrait qui va diffuser dans la gélose. On procède ensuite, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente (Rhayour, 2002; Wilkinson, 2006).

2.4.2. Méthode de dilution

La méthode de dilution en milieu liquide est généralement utilisée pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Dans le milieu de culture, des volumes d'extraits sont introduits pour des concentrations précises puis ce milieu est inoculé par les microorganismes par la suite. Après incubation, la CMI est déterminée soit par colorimétrie (Eloff, 1998) soit par observation de la turbidité (Santos et Hamdan, 2005).

3. Activité antioxydante

L'oxygène est un élément essentiel pour la vie, responsable du fonctionnement normal de tout le système aérobie. Par contre l'O₂ est responsable d'un nombre de processus d'oxydation suivi de mauvaises conséquences comme le stress oxydatif (Garcia-Plazaola *et al.*, 1999), la détérioration de la qualité des aliments (Frankel, 1996) ainsi que le désordre de la santé humaine qui est relié à l'oxydation des molécules biologiques (Ramarathnam *et al.*, 1995).

3.1. Les radicaux libres et le stress oxydatif

Les radicaux libres, molécules pro oxydantes ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou électron non apparié) sur leur couche externe (Toussaint, 2008). Leur principal danger vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants tels que l'ADN ou la membrane cellulaire, avec risque de multiplication anormale des cellules, entraînant un dysfonctionnement ou une mort cellulaire, un cancer. Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal, mais plus encore en cas d'exposition à diverses agressions de l'environnement (agents infectieux, pollution, UV, fumée de cigarettes, rayonnement) (Tanguy *et al.*, 2009).

Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peuvent déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (Christophe et Christophe, 2011 ; Papazian et Roch, 2008).

3.2. Les antioxydants

3.2.1. Définition

Un antioxydant est un réducteur, mais un réducteur n'est pas nécessairement un antioxydant (Prior et Cao, 1999). Le terme "antioxydant" a été formulé comme "une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels" (Halliwell, 1995). "Food antioxydant" a formulé comme une substance qui, en faible quantité, est responsable du ralentissement de l'oxydation des composés facilement oxydables comme les acides gras (Frankel et Mayer, 2000).

3.2.2. Mécanismes d'action

3.2.2.1. Antioxydants primaires ou piègeurs des radicaux libres

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives.

Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire (Frankel *et al.*, 2000).

3.2.2.2. Antioxydants secondaires ou préventifs

Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes. Les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcool, comme thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, les chélatants des métaux pro-oxydatifs type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines ou enfin de séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique (Rolland, 2004).

3.2.3. Classification

Plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation. Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger (Barlow, 1990; Evans et Reynhout, 1992).

3.2.3.1. Les antioxydants naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types :

3.2.3.1.1. Les antioxydants enzymatiques

- **Les superoxydes dismutases (SOD)**

Ces enzymes transforment le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en H_2O_2 beaucoup moins réactif. Cette réaction considérée la plus rapide à ce jour, constitue le facteur déclenchant les mécanismes de la défense naturelle (Vouldoukis, 2004).

- **La catalase (CAT)**

La catalase est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries (Deaton et Marlin, 2003), elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (Ratnam *et al.*, 2006). Le principe est basé sur la disparition de l' H_2O_2 en présence de la source enzymatique (catalase) à 25 °C selon la réaction suivante:



- **La glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase est une enzyme dépendante du sélénium (Akbas *et al.*, 2005). Elle catalyse la réduction d'une variété d'hydroperoxydes organiques (ROOH) ou inorganique (H_2O_2), en utilisant le glutathion (Matés, 2000) :

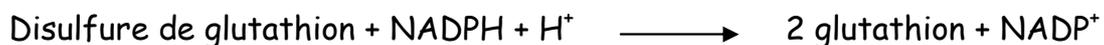


GSH: Glutathion réduit

GS-SG: disulfure de glutathion oxydé

- **La glutathion réductase**

Elle est une oxydoréductase permet de réduire le disulfure de glutathion en glutathion à l'aide de NADPH (Deponte, 2013):



3.2.3.1.1. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux antioxydants enzymatiques, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons :

- **Les oligoéléments**

- ✓ **Le sélénium**

Le sélénium est le 34^e élément de la classification périodique de Mendeleïev. Elle appartient à la famille des chalcogènes (Jacob *et al.*, 2003). Il existe sous

différents degrés d'oxydation. Tous les organismes peuvent assimiler l'oligo-élément sous ses formes sélénite SeO_3^{2-} ou séléniure H_2Se , mais l'assimilation de sa forme sélénate SeO_4^{2-} n'est possible que chez les plantes et les eubactéries (Läuchli, 1993).

Comme la plupart des oligo-éléments, le sélénium joue un rôle clé dans l'ensemble de l'organisme. L'action la plus importante et la plus connue est son effet antioxydant, car il permet à l'organisme de produire la sélénocystéine, qui est une partie du centre actif de l'enzyme glutathion-peroxydase (Navarro-Alarcón et López-Martinez, 2000).

✓ Le zinc

Le zinc est un élément métallique de symbole Zn et de numéro atomique 30.

Le zinc est un oligoélément essentiel pour l'homme. Il fonctionne comme un antioxydant complexe, il participe aux activités de chélation enzymatique (superoxyde dismutase), stabilise les membranes cellulaires et inhibe la peroxydation lipidique (Stehbens, 2003).

• Le glutathion (GSH)

Le glutathion est un constituant intracellulaire ubiquiste présent à des concentrations millimolaires dans la plupart des cellules et micromolaires dans le plasma (Gerard-Monnier et Chodière, 1996). Dans des conditions physiologiques, le glutathion réduit (GSH) représente la très grande majorité du glutathion total (90 à 98%) ; lors d'un stress oxydant le GSH est oxydé avec la formation de pont disulfure, GSSG, et/ou de pont disulfure mixte, GSSR (R étant fixé à un autre thiol radicalaire) (Stamler et Slivka, 1996). Le glutathion agit également comme cosubstrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase (Ravi *et al.*, 2004). Le glutathion protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes (Favier, 2003).

• La vitamine E

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble découverte en 1922 par Evans et Bishop. Elle se concentre au niveau des membranes cellulaires et intracellulaires grâce à sa double affinité pour les lipides (sa chaîne latérale) et pour les protéines (son noyau chromanol). Ainsi fixée, elle protège les acides gras insaturés des membranes contre l'oxydation, grâce à la mise en place de chaînes d'oxydoréductions faisant intervenir des molécules soufrées (cystéine, glutathion) et le sélénium (Jordan et Pattison, 1996).

• La vitamine C

La vitamine C est un antioxydant hydrosoluble considéré comme le plus efficace des antioxydants présents dans le sang (Frei *et al.*, 1989). La vitamine C

se présente sous deux formes dans l'alimentation: l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique.

La vitamine C est un antioxydant naturel qui améliore la fonction rénale après transplantation (Norio *et al.*, 2003). Elle inhibe la peroxydation lipidique (Jonsson *et al.*, 2003) et l'apoptose des cellules endothéliales (Dhar-mascareno *et al.*, 2005).

- **Les polyphénols**

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales. Ce sont des phytomicronutriments et généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge) (Middleton *et al.*, 2000).

Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...) tels que O_2 (anion superoxide), HO_2 (radical perhydroxyle), H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène), OH (radical hydroxyle), RO (radical alkoxy), ROO (radical peroxy), 1O_2 (oxygène singulet) (Middleton *et al.*, 2000). Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans nos régimes alimentaires. Nous consommons chaque jour environ un gramme de polyphénols qui proviennent exclusivement des aliments d'origine végétale. Ils renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydant et préviendraient ainsi diverses maladies chroniques, telles que cancers et maladies cardio-vasculaires. L'effet protecteur des fruits et légumes est sans doute très lié à la présence des très nombreux polyphénols présents dans ces aliments (Gee et Johnson, 2001).

3.2.3.2. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), le tertiarybutylhydroquinone (TBHQ), le 2,4,5-trihydroxybutyrophenone (THBP), le di-tertbutyl-4-hydroxyméthylphénol (IONOX-100), le gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG), l'acide nordihydroguaiaretique (NDGA) et le 4-hexylresorcinol (4HR), sont utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétales (Guo *et al.*, 2006).

Le PG et le BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant de la peroxydation des acides gras insaturés (Xiang *et al.*, 2007). Malgré la puissance de leur activité antioxydante, l'excès de ces antioxydants

synthétiques (BHT, BHA, TBHQ) peut être toxique et peut même présenter un danger sur la santé humaine (Williams, 1994).

3.2.4. Techniques d'évaluation de l'activité antioxydante

3.2.4.1. Test de piégeage du radical DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl ; et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517nm (Gulcin *et al.*, 2003 ; Molyneux 2004 ; Roginsky et Lissi 2005).

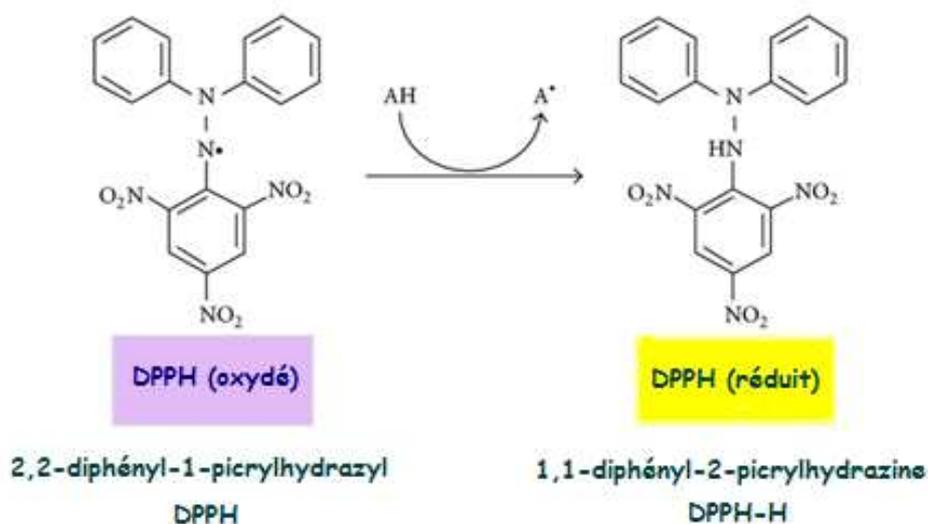


Figure 16: Principe du test DPPH (Teixeira *et al.*, 2013)

3.2.4.2. Test du blanchissement du β -carotène

L'activité antioxydante a été déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

En effet, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir de groupements méthylènes. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm (Shon *et al.*, 2003). Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide

linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Deba, 2008).

3.2.4.3. Test de réduction de fer (FRAP)

Cette technique est développée pour mesurer la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet, le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des antioxydants (Hubert, 2006).

Chapitre IV

Aperçu sur les trichomes

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (trichomes). Les huiles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires recouvertes d'une cuticule. La forme et le nombre des structures histologiques sécrétrices varient d'une famille botanique à l'autre et même d'une espèce à une autre. Néanmoins, plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce (Perrin et colson, 1986; Karray-Bouraoui *et al.*, 2009).

1. La feuille

Les feuilles sont des organes végétatifs, généralement aplatis, portés latéralement par les tiges.

Classiquement, la morphologie, l'anatomie des tiges et celles des feuilles font l'objet d'études distinctes. Cependant ces deux organes sont étroitement associés. Ils n'existent pas l'un sans l'autre. Ils naissent d'un même organe embryonnaire : le point végétatif caulinaire. Leur vascularisation est commune. La tige et ses feuilles constituent en fait, un ensemble indissociable : la tige feuillée (Camefort, 1977).

La structure interne du limbe est adaptée essentiellement à deux fonctions vitales:

- Photosynthèse,
- Limitation et contrôle des pertes d'eau liées à la transpiration.

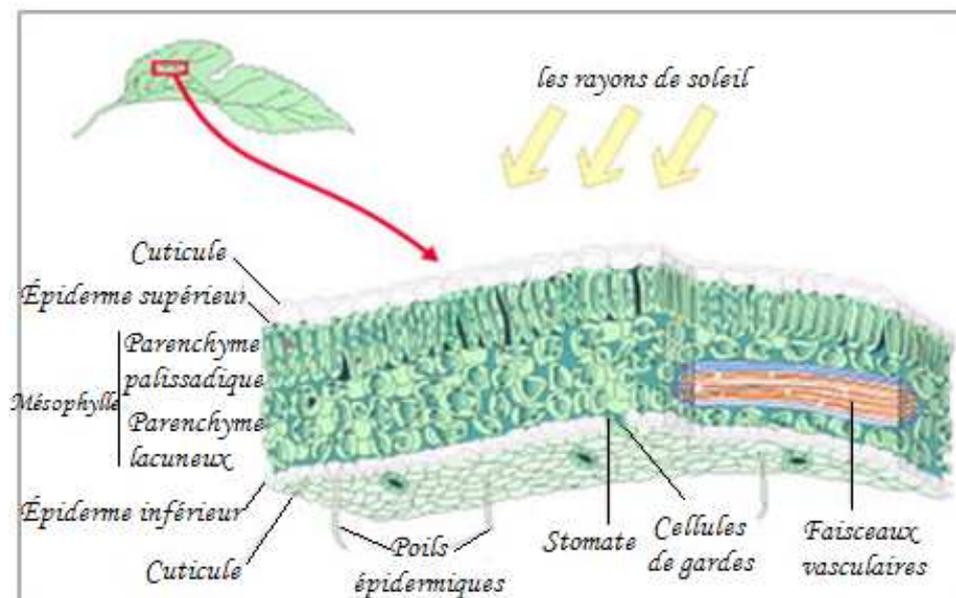


Figure 17: Anatomie de la feuille (Perez Romero, 2014)

2. Les trichomes

2.1. Définition

L'épiderme de certaines plantes forme de **trichomes**. Trichome (du grec trichos, poil) est une excroissance épidermique comme un poil, une écaille ou une vésicule (Raven *et al.*, 2008).

2.2. Types des trichomes

La typologie du trichome est basée sur une combinaison caractéristique des poils des échantillons d'un taxon. Elle est complexe puisque plusieurs critères doivent être examinés : morphologie, origine, taille, lieu, capacité de sécrétion, mode de sécrétion, fonction, etc ; elle distingue avant tout les trichomes glanduleux, ou sécréteurs, et les trichomes non glanduleux, ou tecteurs (expansion de cellules épidermiques assurant la protection et diminuant la transpiration de la plante).

2.2.1. Les trichomes glandulaires (sécréteurs)

Les trichomes glandulaires sont présents chez 30% des plantes vasculaires (Dell et McComb, 1978; Fahn, 2000) dont les Lamiacées, les astéracées, les géraniacées, les solanacées et les cannabinaées, ils sont distribués sur les différents organes reproductifs ou végétatifs.

Ces trichomes sont les formes les plus répandues, ils représentent à la fois le site de biosynthèse et de stockage des huiles essentielles (Combrinck *et al.*, 2007).

Ils sont typiquement composés de quelques cellules épidermiques basales qui, par division, donnent une à plusieurs cellules, ayant de pieds de taille variable, surmontées d'une à plusieurs cellules de tête sécrétrice (Werker, 1993). Chez les *Lamiaceae* aromatiques, coexistent deux types de trichomes glandulaires sécréteurs : les trichomes capités et les trichomes peltés (Perrin et colson, 1986; Fahn, 2000; Hallahan, 2000).

2.2.1.1. Trichomes capités

Ils y étaient classés selon trois types (Figure 18):

- **Le type 1** caractérise de poils petits et trapus, pourvus d'un court stipe unicellulaire et d'une tête sécrétrice unicellulaire arrondie.
- **Le type 2** caractérise des poils pourvus d'un stipe unicellulaire ou plus fréquemment bicellulaire et d'une tête sécrétrice unicellulaire allongée ; la partie apicale de la tête est surmontée de la chambre sous-cuticulaire dans laquelle se dépose le produit de sécrétion.
- **Le type 3** caractérise des poils fins et allongés, pourvus d'un stipe de 2 à 5 cellules, parfois plus long, et d'une tête sécrétrice unicellulaire ou bicellulaire arrondie.

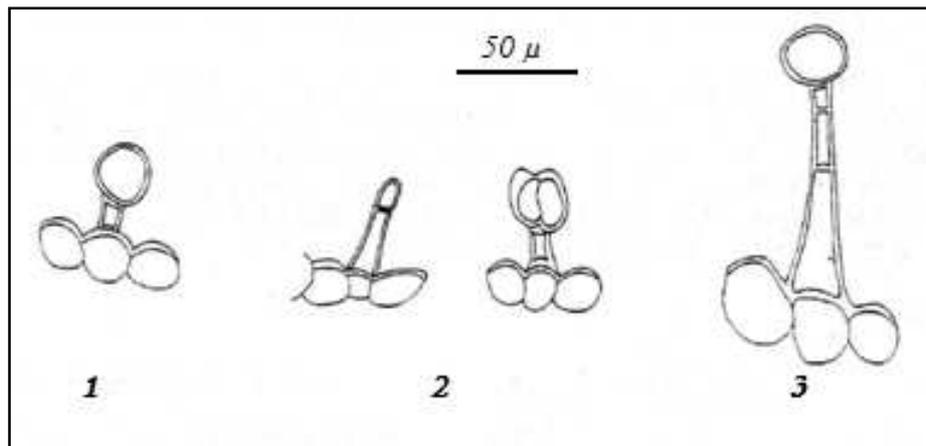


Figure 18: Les trichomes glandulaires capitées de types 1, 2, 3 (Arnold et Bellomaria, 1993)

2.2.1.2. Trichomes peltés

Ils appartiennent aussi à trois types (Figure 19):

- **Le type 1** caractérise des poils pourvus d'un stipe court, unicellulaire, et d'une tête sécrétrice formée de 12 cellules dont l'aspect est régulier.
- **Le type 2** caractérise des poils pourvus d'un stipe unicellulaire très allongé et d'une tête sécrétrice formée de 8 à 12 cellules.
- **Le type 3** caractérise des poils pourvus d'un stipe très réduit et d'une tête sécrétrice formée de 8 à 12 cellules d'aspect régulier, toutes disposées en éventail autour du stipe.

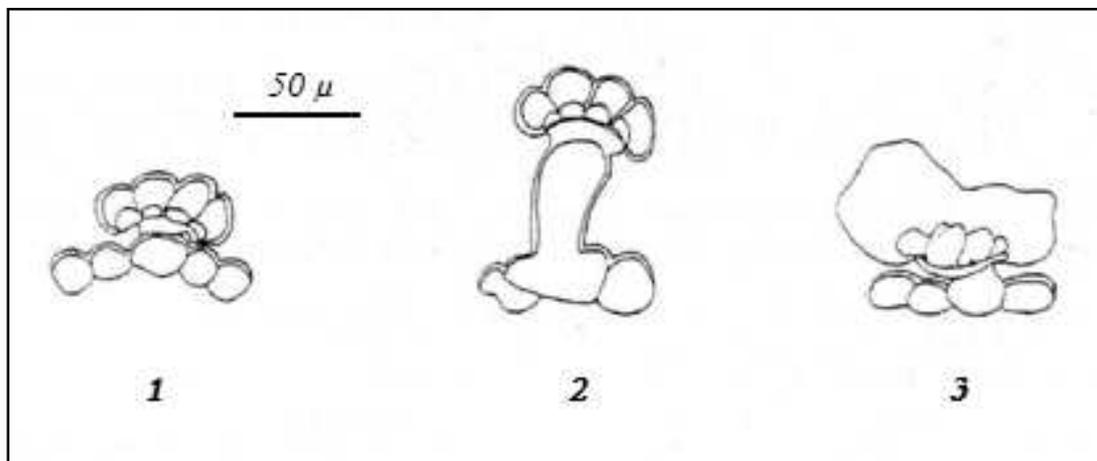


Figure 19: Les trichomes glandulaires peltées de types 1, 2, 3 (Arnold et Bellomaria, 1993)

2.2.2. Les trichomes non glandulaires (tecteurs)

Les trichomes non glanduleux ou tecteurs sont très différents en ce qui concerne leur morphologie, anatomie ou microstructure. Ils peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires, ramifiés ou non ramifiés. Les trichomes pluricellulaires non ramifiés peuvent aussi être unisériés, bisériés ou plurisériés. Ces trichomes diffèrent aussi selon leur longueur, leur taille et la forme des cellules, ils peuvent aussi être symétriques ou asymétriques; leur largeur est

parfois identique ou uniforme ou bien très différente dans chaque partie du trichome. La tête du trichome varie aussi : elle est parfois épineuse, se termine comme un couteau, ressemble à une bougie, etc. Ces trichomes peuvent aussi être verruqueux ou non verruqueux, à paroi lisse ou raide. Les trichomes ramifiés pluricellulaires peuvent avoir des ramifications simples ou elles mêmes ramifiées, égales, opposées, etc. (Venkatachalam *et al.*, 1984; Bosabalidis, 1990; Maleci Bini et Servattaz, 1991; Moh Rejdali, 1991; Maleci Bini *et al.*, 1992; Servattaz *et al.*, 1992; Bourett *et al.*, 1994; Serrato-Valenti *et al.*, 1997; Kolalite, 1998; Ascensão *et al.*, 1999; Rapisarda *et al.*, 2001).

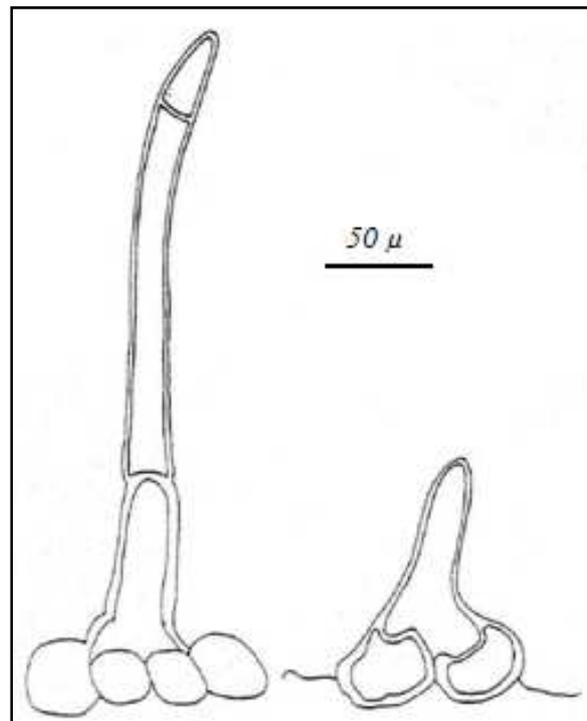


Figure 20: Les trichomes non glandulaires (tecteurs) (Arnold et Bellomaria, 1993)

2.3. Trichomes des *Lamiaceae*

Chez les Lamiacées, les trichomes sont recouverts d'une cuticule. Très souvent, lors de la maturation des trichomes, celle-ci se détache de la paroi pecto-cellulosique et l'huile essentielle s'accumule dans l'espace sous-cuticulaire ainsi généré. Les composés sont relâchés lors de la rupture de la cuticule. Chez la menthe, le taux d'évaporation des composés à travers la cuticule des glandes peltées est très faible (moins de 5% sur une période de 6 mois) (Gershenzon *et al.*, 2000).

Werker (1993) considère que les plantes sans poils peltés ne sont pas aromatiques ; c'est vrai pour plusieurs espèces d'*Ocimum* (Maleci Bini *et al.*, 2000), mais dans d'autres cas, comme chez *Rosmarinus*, d'autres poils sont responsables de la sécrétion (Maleci Bini *et al.*, 1997), tels que des poils capités.

La composition chimique de l'huile essentielle des deux types de poils a donné des résultats quantitativement et qualitativement différents.

2.4. Fonctions des trichomes

Le rôle le plus important des trichomes est la réflexion lumineuse qui permet de réguler la température des feuilles (Martin et Glover, 2007). Une autre fonction est la lutte contre les stress biotiques. En effet, les trichomes représentent une barrière physique contre la progression des organismes prédateurs (Richardson *et al.*, 1943).

Enfin, des études ont montré que les trichomes glandulaires sont capables d'accumuler et de sécréter des éléments ioniques à la surface des glandes salines (Na, Cl) ou métalliques (Ca, Cd, Zn, Mn, Pb, Ni) (Uphof, 1962; Salt *et al.*, 1995; Kupper *et al.*, 2000; Choi *et al.*, 2001; Broadhurst *et al.*, 2004).

Partie expérimentale

Chapitre I

Présentation de site d'étude

1. Position géographique

Localisé dans la partie septentrionale de la wilaya de Sidi Bel Abbés, la zone montagneuse de Tessala offre une gamme de bioclimats, de sols et de formations végétales. Limités au Nord par la plaine de la Mleta et la Sebka d'Oran, à l'Est par les monts de Béni chougrane, à l'Ouest par les monts de Sebaa Chioukh et au Sud par la plaine de Sidi Bel Abbés, elle présente une palette appréciable pour une occupation des sols diversifiée et des potentialités végétales et floristiques intéressantes (Charif, 2001) (Figure 21).

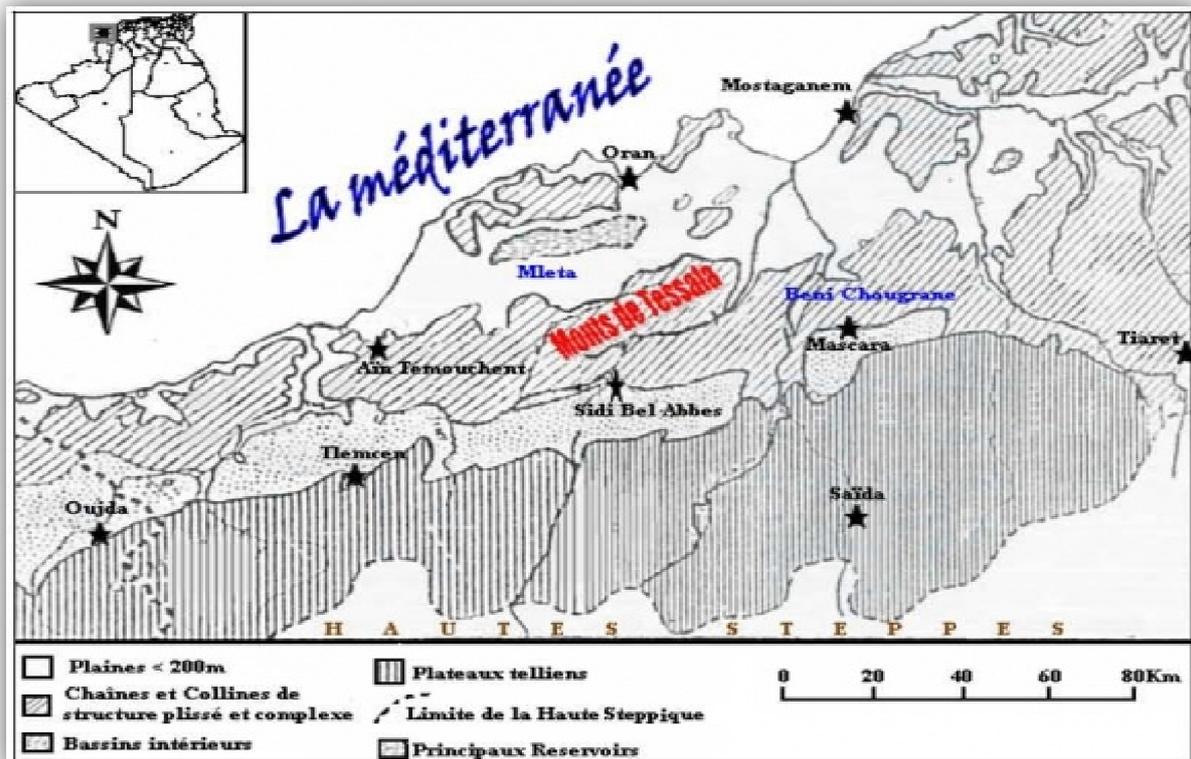


Figure 21: Localisation de la commune de Tessala dans la wilaya de Sidi Bel Abbés (Kiekken, 1962)

2. Caractères orographiques

2.1. La pente

La morphologie des pentes se distingue par un ensemble d'orientations nord avec des vallées profondes et étroites parcourues d'oueds et par des entailles. L'ensemble d'orientation sud se caractérise par un relief doux, avec des oueds et les ravins peu profonds et des lignes de crêtes adoucies (Dalloni, 1952).

Les classes des pentes 3 à 12 % et 12 à 25% occupent presque 80% de la zone d'étude qui est composée essentiellement d'une série de collines aux allures ondulées.

La classe de pente supérieure à 25% occupe 2920 ha et reste localisée dans une série de petits massifs dont les pentes sont très accentuées, c'est le cas du Djebel Tessala.

La classe de pente 0-3 % n'est présente que sur 394 ha qui constituent la zone de contact entre la plaine de Sidi Bel Abbés et les collines et massif de Tessala.

En effet, sur les terrains à forte déclivité (pente supérieure à 25%), la morphodynamique est très marquée essentiellement par l'érosion linéaire (ravinement), là où les terrains sont défrichés ou à faible taux de recouvrement en végétation pérenne (forêt ou maquis clairs avec un substrat sensible à l'érosion). C'est le cas de la partie ouest des monts du Tessala. La déclivité des terrains n'est pas sans effet sur l'occupation du sol et sur ses caractères physiques et agronomiques.

Par ailleurs sur les terrains où les classes de pentes 3-12% et 12-25% dominent, la céréaliculture est développée avec quelques fois de l'arboriculture et la vigne (Chellal, 2003).

2.2. Exposition

Vu l'altitude importante et de ses effets sur les précipitations et la brise marine, l'exposition a un effet sur les conditions écologiques de la zone de Tessala.

Le versant nord bénéficie de conditions climatiques et édaphiques plus clémentes, une brise marine avec ses effets adoucissants en été, une faible évaporation, des sols relativement équilibrés et une pluviométrie intéressante (Benyahia *et al.*, 2001).

2.3. Altitude

Les monts de Tessala se rapportent au domaine Tellien du sud, ils s'étendent dans la direction du Sud- Ouest et Nord- Est et passent à l'Est en s'associant aux monts de Beni Chougrane.

Les côtes varient largement, elles ont des valeurs maximales dans les parties Sud- Ouest (Djebel Tessala 1061m) la chaîne s'arrête abruptement à côté de la plaine de Mleta. Au Sud et au Sud- Est, s'étend la plaine de Sidi Bel Abbés dont les altitudes varient de 400 à 500m, qui est caractérisée par un relief très peu accidenté (Charif, 2001).

3. La pédologie

En général, la répartition des sols est intimement liée aux conditions orographiques (agencement du relief, altitude, pente...) et lithologiques.

3.1. Étagement des sols

Sur les hauts versants: On trouve les lithosols, les régosols et quelques rendzines, les sols bruns sont peu représentés, ainsi que les sols minéraux bruts dans les zones les plus touchés par l'érosion.

Sur les versants médians: Il y a une présence de relief élevé, avec une texture très argileuse et une roche mère marno- calcaire.

Sur les bas versants et les collines: Les sols bruns calcaires dominant en parallèle avec les sols bruns rouges et se localisent surtout sur les collines ou dans la plaine et remontent en quelques endroits jusqu'au sommet des monts de Tessala (Bouklikha, 2001).

3.2. Types de sols

Les différents types de sols dans la zone d'étude sont:

3.2.1. Les sols à sesquioxydes de fer

Ce sont des sols rouges ou bruns rouges, leur profondeur varie de 50 à 80 cm. Leur texture est en général équilibrée et leur structure grumeleuse, se sont des sols peut touchés par l'érosion et essentiellement affectés par le décapage. Ces sols sont occupés par une grande partie de céréales, fourrages et en second lieu par l'arboriculture rustique (olivier), très peu de maraîchages.

3.2.2. Les sols bruns calcaires

Leur profondeur est inférieure à 50 cm de texture lourde et une structure polyédrique fine. L'horizon superficiel de ces sols est de type A₀ très lessivé. Ces sols portent des céréales, jachères exclusivement.

3.2.3. Les vertisols

Ce sont des sols lourds à couleur noirâtre ou brun foncé, leur texture limono-argileuse est de structure généralement grumeleuse. Leur profondeur varie entre 30 et 50 cm, leur principales caractéristiques est leur faible hydromorphie de surface, ils sont colonisés par les céréales, des fourrages et de la jachère, tandis que l'arboriculture et la vigne s'étendent à des surfaces réduites.

3.2.4. Les lithosols et les régosols

Ce sont des sols se localisent sur les versants à forte pente avec une profondeur ne dépassant qu'exceptionnellement les 30 cm (Ferka Zazou, 2006).

4. Caractéristiques climatiques

Le climat est le résultat de l'action d'un ensemble des facteurs météorologiques qui régissent l'atmosphère d'une région donnée. Ces nombreux facteurs comme la température, le régime des pluies et des vents conditionnent le développement des végétaux.

La région de Tessala sud appartient à l'étage bioclimatique semi- aride, elle est caractérisée par un hiver pluvieux assez froid et un été très chaud.

4.1. Précipitations

La pluviosité est le facteur primordial qui permet de déterminer le type du climat. En effet, celle-ci conditionne le maintien et la répartition du tapis végétal d'une part, et la dégradation du milieu naturel par le phénomène d'érosion (Djebaili, 1978).

La courbe ci-dessous illustre la pluviométrie moyenne mensuelle selon l'O.N.M (2015), sur une période de 36 ans (1980-2015).

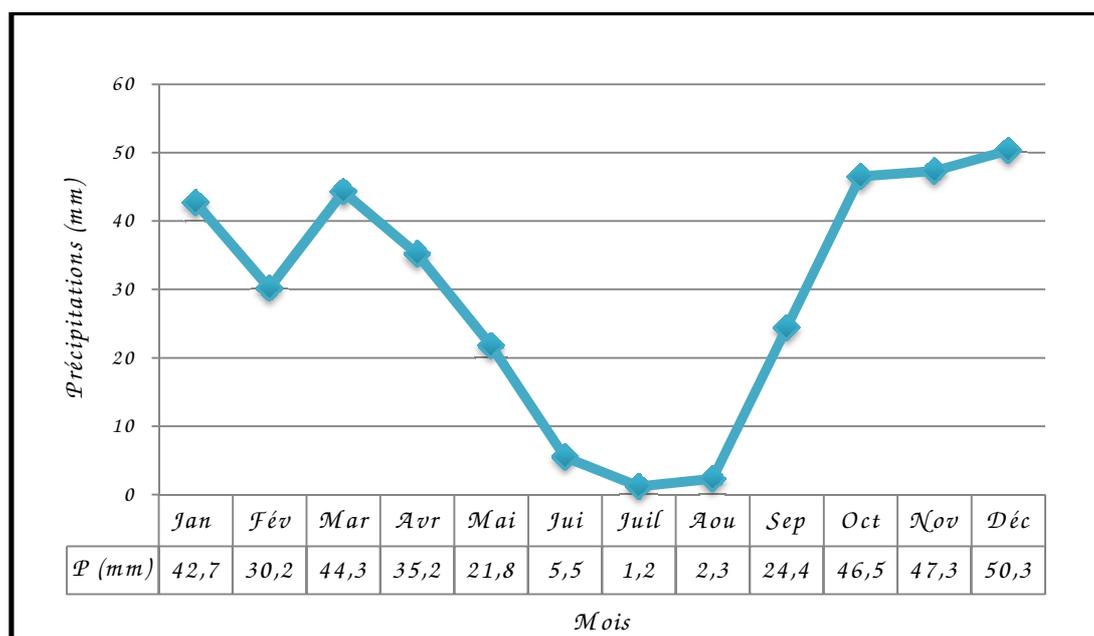


Figure 22: Précipitations mensuelles moyennes (en mm) de la commune de Tessala (1980-2015) (O.N.M, 2015)

Tableau 7: Répartition des précipitations annuelles (en mm) de la commune de Tessala (1980-2015) (O.N.M, 2015)

Années	P (mm)	Années	P (mm)	Années	P (mm)
1980	397,9	1992	282	2004	412,3
1981	197,5	1993	274,7	2005	240,7
1982	461,9	1994	300,8	2006	279,8
1983	129,5	1995	285,3	2007	354,3
1984	410,9	1996	477,1	2008	421,5
1985	262,9	1997	320,8	2009	331,8
1986	348,5	1998	194,5	2010	530
1987	266,8	1999	369,4	2011	399
1988	223,2	2000	250,7	2012	146
1989	295,3	2001	357,6	2013	204
1990	409,8	2002	249,8	2014	415
1991	306,8	2003	374,9	2015	300

Dans la région de Tessala, la pluviométrie annuelle est relativement assez faible. Ainsi sur une période de 36 années, seules huit années (1982, 1984, 1990, 1996, 2004, 2008, 2010 et 2014) ont enregistré un cumul excédant les 400 mm (tableau 7). La moyenne des précipitations annuelles enregistrées depuis 1980 à 2015 est de 351,7 mm. On enregistre le minimum de 129,5 mm en 1983 et le maximum de 530 mm en 2010 (figure 23).

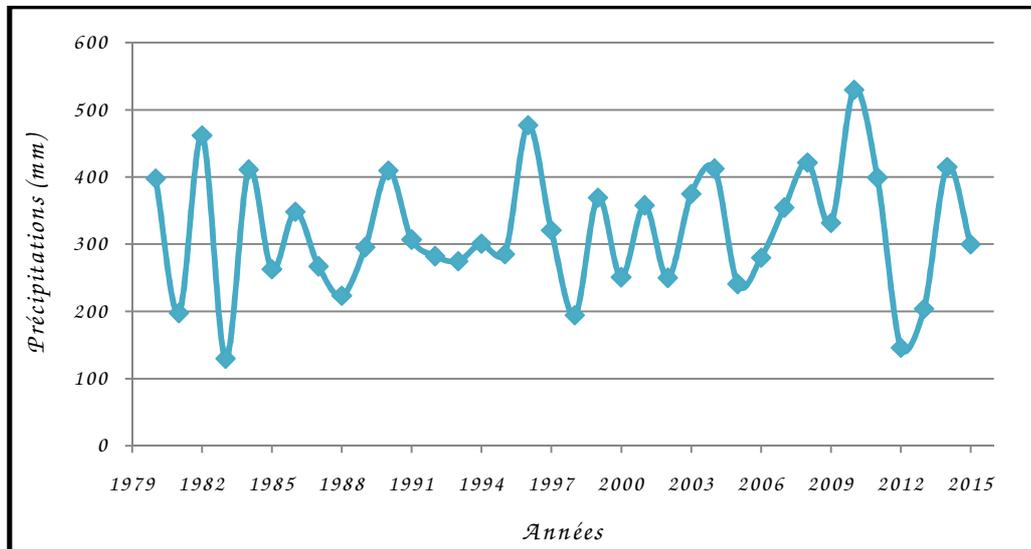


Figure 23: Variation interannuelle des précipitations moyennes annuelles (1980-2015)

4.2. Températures

Elle exprime l'énergie reçue en un lieu donné. C'est la température de l'air et du sol qui sont importantes. Elles dépendent de la latitude, l'altitude des masses d'air, de la couverture végétale. Elles dépendent aussi au type et de la couleur du sol.

La caractérisation de la température en un lieu donné se fait généralement à partir de la connaissance des variables suivantes: les températures maximales (M), les températures minimales (m) et les températures moyennes mensuelles ($(M+m)/2$).

Les températures moyennes mensuelles enregistrées durant la période de 1980-2015 (figure 24) montrent un maximum au mois d'Aout et un minimum au mois de Janvier.

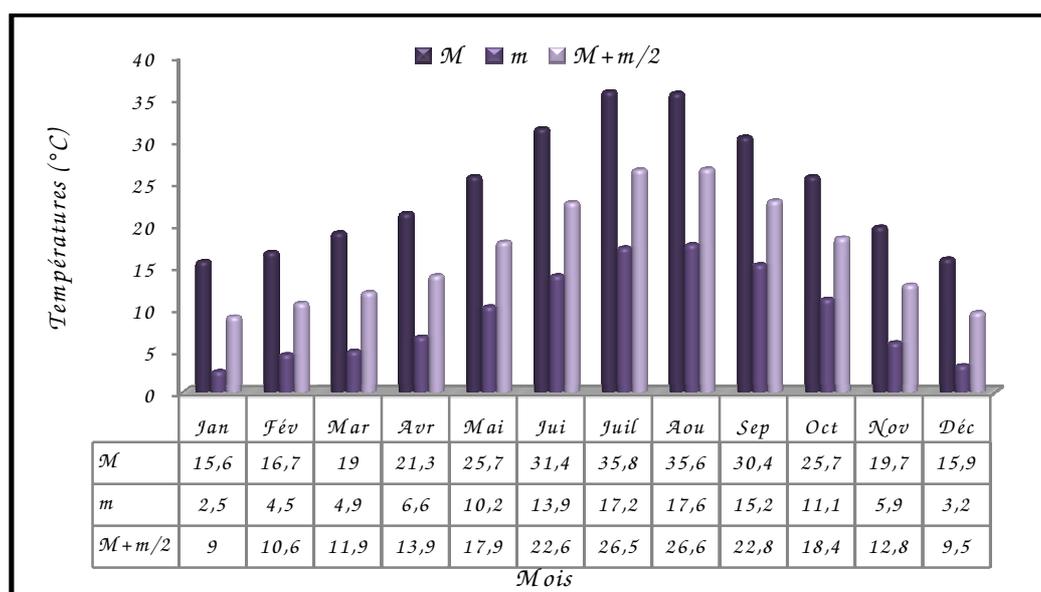


Figure 24: Variation des températures moyennes mensuelles de la période 1980-2015

4.3. Synthèse bioclimatique

4.3.1. Diagramme Ombrothermique (1980-2015)

Dans ce diagramme, les températures sont portées à une échelle (graphique) double de celle des précipitations, en ordonnées, et les 12 mois de l'année en abscisses.

Ce diagramme permet de définir la saison sèche.

Gausсен considère qu'un mois est sec lorsque la pluviosité mensuelle ($P_{(mm)}$) est inférieure au double de la température moyenne mensuelle ($T_{(°C)}$) : $P < 2T$

Les données correspondantes aux précipitations et aux températures moyennes entre 1980 et 2015 sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 8: Précipitations (en mm) et températures (en °C) moyennes mensuelles (1980-2015) (O.N.M, 2015)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
P (mm)	42,7	30,2	44,3	35,2	21,8	5,5	1,2	2,3	24,4	46,5	47,3	50,3
T (°C)	9,0	10,6	11,9	13,9	17,9	22,6	26,5	26,6	22,8	18,4	12,8	9,5

Le diagramme ombrothermique de la période 1980-2015, représenté par la figure 25 fait ressortir les caractéristiques suivantes:

- une période humide s'étalant sur une période d'environ sept mois.
- une période sèche s'étalant sur une période allant de mi-avril jusqu'à mi-septembre.

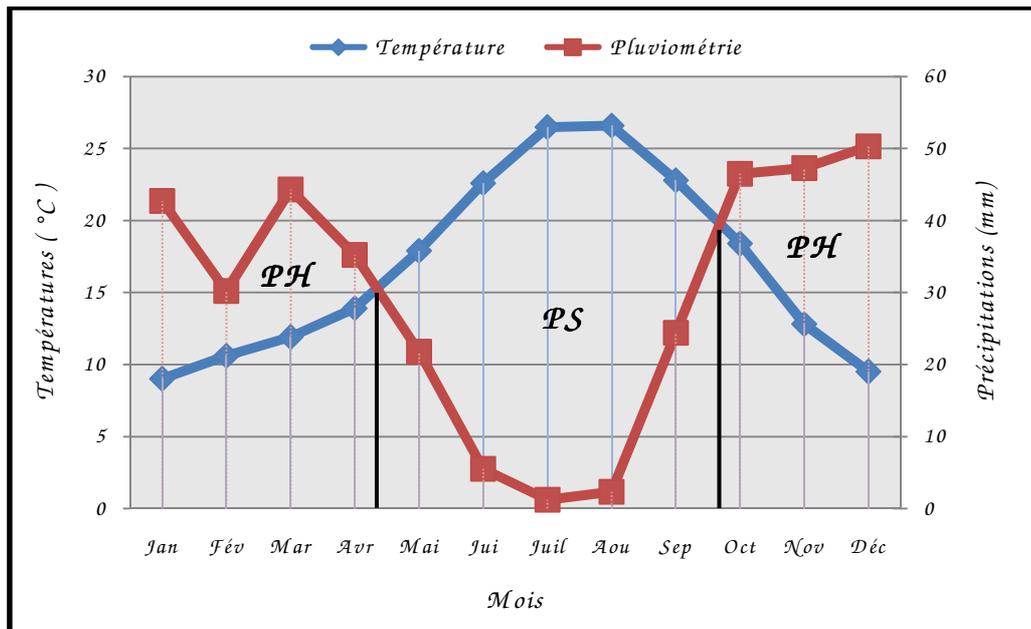


Figure 25: Diagramme ombrothermique ($P=2T$) de la station de Tessala de la période 1980-2015

4.3.2. Indice d'aridité de De Martonne

Cet indice permet de caractériser l'aridité du climat d'une région donnée. Il est calculé par la formule suivante : $I = P / (T+10)$ où P désigne les précipitations moyennes annuelles et T les températures moyennes annuelles.

Donc : $I = 351,7 / (16,8+10) = 13,12$

Pour:

- $20 < I < 30$: climat tempéré
- $10 < I < 20$: climat semi- aride
- $7,5 < I < 10$: climat steppique
- $5 < I < 7,5$: climat désertique
- $I < 5$: climat hyperaride

D'après la valeur de l'indice d'aridité, la commune de Tessala caractérisée par un climat semi- aride.

4.3.3. Régime saisonnier

La méthode consiste à un aménagement des saisons par ordre décroissant des précipitations, ce qui permet de définir un indicatif saisonnier. Cette répartition saisonnière est particulièrement importante dans la physionomie de la végétation (Corre, 1961).

La répartition des précipitations dans la région de Tessala, met en évidence un rapport de proportionnalité entre le régime thermique et le volume pluviométrique.

Tableau 9: Régime saisonnier des Précipitations de la station de Tessala de la période 1980-2015

Saisons	Automne			Hiver			Printemps			Eté		
Mois	Sep	Oct	Nov	Déc	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou
P (mm)	24,4	46,5	47,3	50,3	42,7	30,2	44,3	35,2	21,8	5,5	1,2	2,3
	118,2			123,2			101,3			9		
En %	33,61			35,03			28,80			2,56		

Cette répartition constitue, pour la région de Tessala, un indicatif saisonnier très important qu'on appelle l'indicatif de Musset et qui de type H.A.P.E.

4.4. Les vents

Tableau 10: Moyennes mensuelles de vitesse des vents en m/s (O.N.M, 2015)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
Moyenne mensuelle	2,5	2,27	2,48	2,95	2,71	2,63	2,34	2,26	2,15	2,04	2,43	2,45

Les vents soufflent toute l'année avec une force sensiblement constante, mais cette force est cependant plus grande en été qu'en hiver. L'été est la saison des vents secs et chauds d'origine, les siroccos, avec une moyenne de 15,6 jours de sirocco par an à Tessala.

Par conséquence, il dessèche d'avantage le sol et provoque un effet néfaste sur les plantes par l'augmentation de la transpiration entraînant un dessèchement des plantes sensibles.

4.5. Les gelées

Tableau 11: Fréquence moyenne mensuelle des gelées (O.N.M, 2015)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
Moyenne mensuelle	11	8,85	4,09	1,66	0	0	0	0	0	0,09	2,19	7,9

Pratiquement présente au début de Décembre mais avec une fréquence en période printanière, la gelée noire est nocive pour l'agriculture et l'arboriculture.

4.6. L'humidité

Tableau 12: Moyennes mensuelles du taux d'humidité relative (O.N.M, 2015)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
Moyenne mensuelle	76	76	71	69	65	56	51	53	64	70	74	77

D'après le tableau ci-dessus, l'humidité relative est supérieure ou égale à 70% durant les six mois de l'année et à partir du mois d'Octobre. Un maximum de 77%

est constaté au mois de Décembre, saison hivernale, et un minimum de 51% est observé au mois de juillet, saison estivale.

5. Les formations végétales

Le diagnostic phytoécologique des relevés floristiques par Ferka Zazou (2006) dans les monts de Tessala permis de libérer quatre formations principales :

5.1. Taillis dense

Située dans le versant Nord à exposition Nord- Ouest, le taillis dense de chêne vert (*Quercus ilex*) est la formation qui joue encore un rôle forestier. Elle couvre une superficie 99 ha soit 9% seulement de la superficie totale de la forêt. Le chêne vert constitue l'essentiel de cette formation, il persiste malgré toutes les pressions qu'il subit (pacage bovin intense, coupe, etc.) et se régénère chaque fois qu'il est mutilé ou dégradé.

5.2. Matorral dense

Il occupe une place importante dans notre forêt. Il s'étend sur 310 ha soit 27 % de la superficie totale des terres forestières. Cette formation est constituée essentiellement de taillis bas de chêne vert et chêne kermès. Elle est très bien représentée car elle découle de la dégradation de la chênaie verte en versant Nord et Nord- Ouest.

5.3. Garrigue

Avec une superficie de 382 ha soit 33% de la superficie totale de la forêt, cette formation végétale est la plus représentée. Les principales espèces qui la caractérisent sont: *Calycotome spinosa* Link., *Chamaerops humilis* L., *Ampelodesma mauritanica* Bir., et *Asphodelus micrcarpus* Sal & Viv. Cette formation, ultime rempart naturel contre l'érosion, est rencontrée le plus souvent sur les sommets de collines, les sols caillouteux et les versants abrupts et parfois le long des berges des cours d'eau bénéficiant de l'humidité mais souffrant de la pression animale.

5.4. Forêt claire

Cette formation est localisée sur le versant Sud en exposition Sud- Est. C'est une forêt claire, trouée, de reboisement, constituée essentiellement par le Pin d'Alep, l'eucalyptus. Le Chêne vert, le caroubier et l'acacia sont accessoirement présents. Le pin d'Alep est quantitativement dominant. Cette formation s'étend sur 208 ha soit 18% de la superficie totale de la forêt.

Chapitre II

Matériel & méthodes

1. Matériel végétal

Les six taxons choisis (*Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.) ont été récoltés dans les monts de Tessala, région de Sidi Bel Abbès (Algérie occidentale) durant les années 2013 et 2014. Après la récolte des spécimens, les feuilles prélevées sont mises à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant une dizaine de jours puis réduites en poudre. La poudre des feuilles est conservée dans des flacons sombres à l'abri de la lumière jusqu'au jour des manipulations.

Tableau 13: Coordonnées des espèces étudiées

Station	Altitude	Latitude	Longitude	Espèce
S1	815 m	35°16'11.9" N	0° 46'14.6" W	<i>Phlomis crinita</i> Cav.
S2	923 m	35°16'30.5" N	0°46'47.6" W	<i>Satureja calamintha</i> Scheele.
S3	951 m	35°16'34.7" N	0°46'42.0" W	<i>Origanum vulgare</i> L.
S4	783m	35°16'44.4" N	0°46'03.1" W	<i>Mentha pulegium</i> L.
S5	798 m	35°16'10.3" N	0° 46'13.0" W	<i>Thymus serpyllum</i> L.
S6	858 m	35°16'06.1" N	0°46'40.4" W	<i>Thymus vulgaris</i> L.

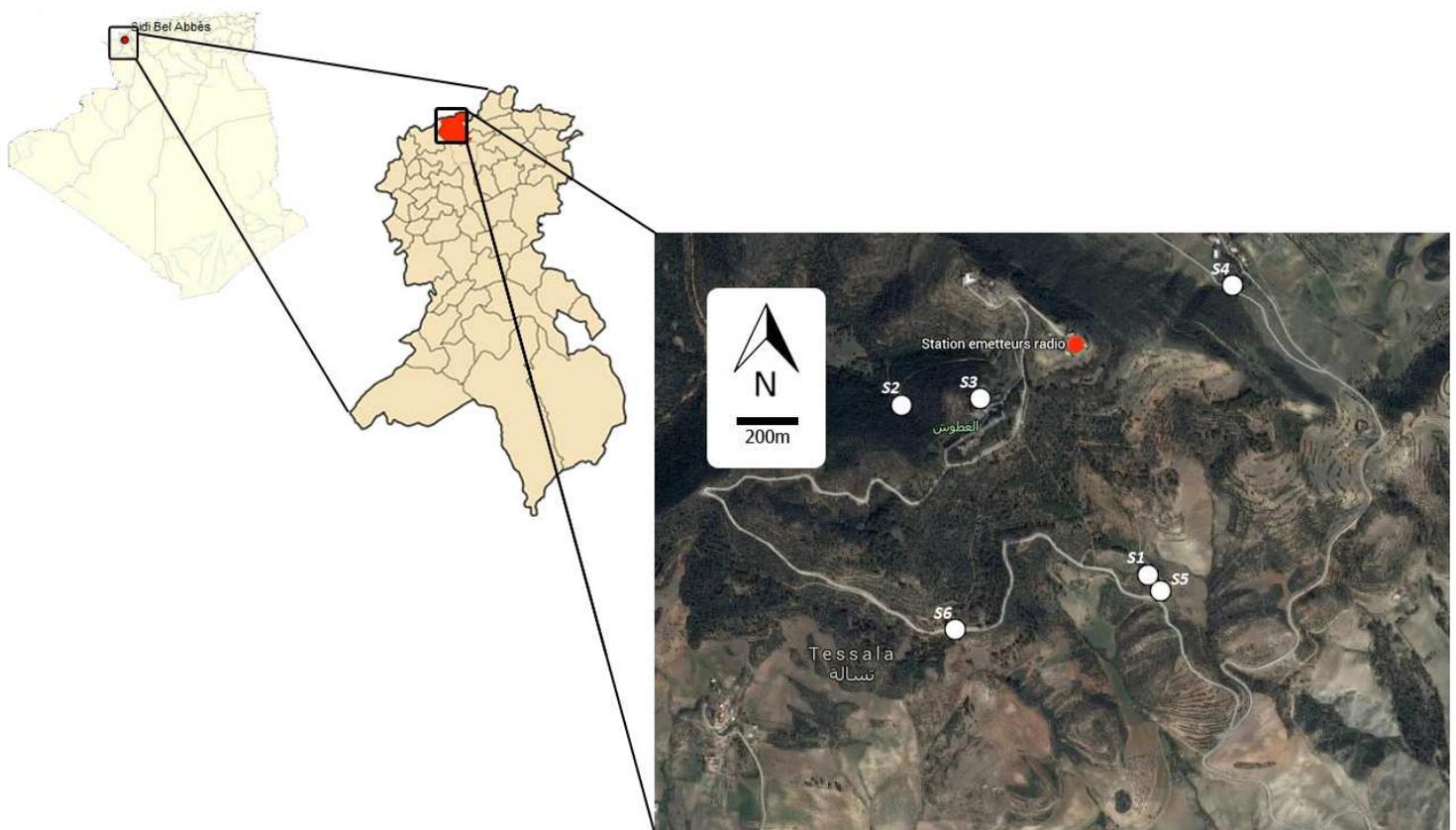


Figure 26: Localisation des espèces étudiées (Google Map, 2015)

2. Dosage des polyphénols

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la variation quantitative de quelques polyphénols (phénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et tanins hydrolysables) dans les feuilles de *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.

2.1. Dosage des phénols totaux et des flavonoïdes

2.1.1. Extraction

0,2 gr de poudre végétale sont broyées à froid (4°C) dans le méthanol à 80%. Après agitation au vortex, le mélange est centrifugé à une vitesse de 4000t ×10 mn par une centrifugeuse (Hettich UNIVERSAL/ K2S) et ainsi le surnageant est récupéré. Cette opération est répétée 3 fois pour épuiser le contenu en composés phénoliques solubles de l'échantillon. Les surnageants sont regroupés et constituent l'extrait hydroalcoolique conservé à -20°C pour les analyses. Les différentes étapes d'extraction sont représentées par la figure 27 selon le protocole présenté par El Hadrami et al. (1997).

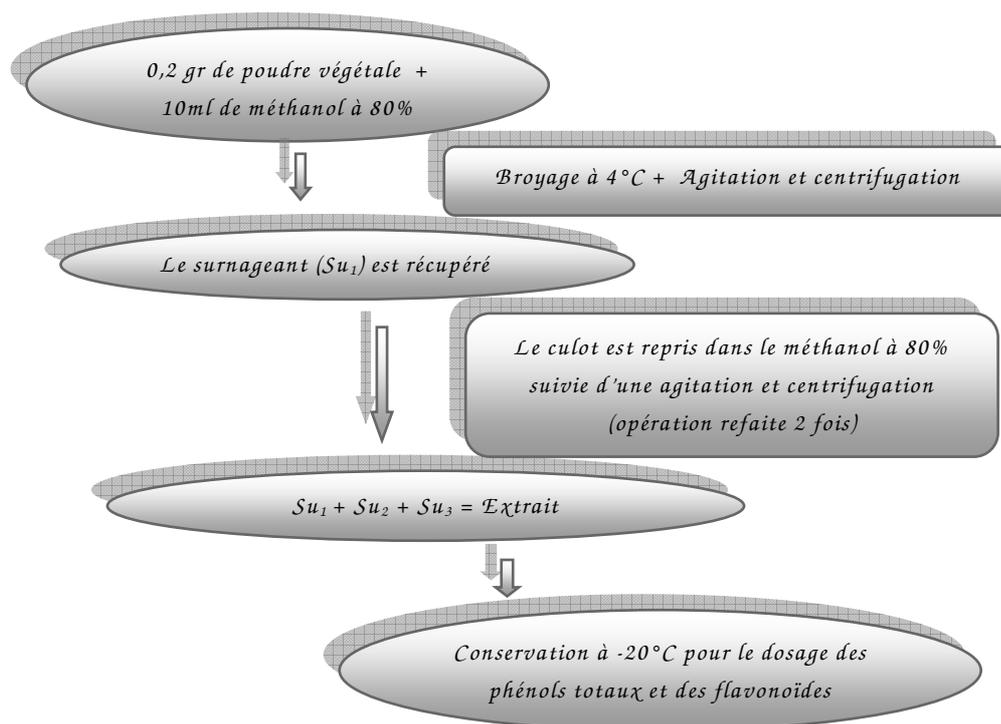


Figure 27: Protocole d'extraction des phénols totaux et des flavonoïdes (El Hadrami et al., 1997)

2.1.2. Dosage des phénols totaux par spectrophotométrie

2.1.2.1. Protocole

La teneur en phénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (El Hadrami et al., 1997). C'est l'une des méthodes les plus usitées pour déterminer la teneur en polyphénols, des plantes médicinales (Abdel-Hameed, 2009).

50 μ l de l'extrait hydroalcoolique sont dilués dans 2,5 ml d'eau distillée additionnée de 250 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange ainsi obtenu est soumis à une agitation au vortex suivie d'un repos de 5 mn à la température ambiante. Après une seconde agitation, 500 μ l de carbonate de sodium 20% y sont ajoutés au mélange. Après incubation à 40°C pendant 30 mn, le mélange est gardé à la température ambiante et à l'obscurité pendant 60 mn. Sa densité optique (D.O) est lue au spectrophotomètre UV-VIS à une longueur d'onde (λ) de 765 nm. Les différentes étapes sont représentées par la figure suivante.

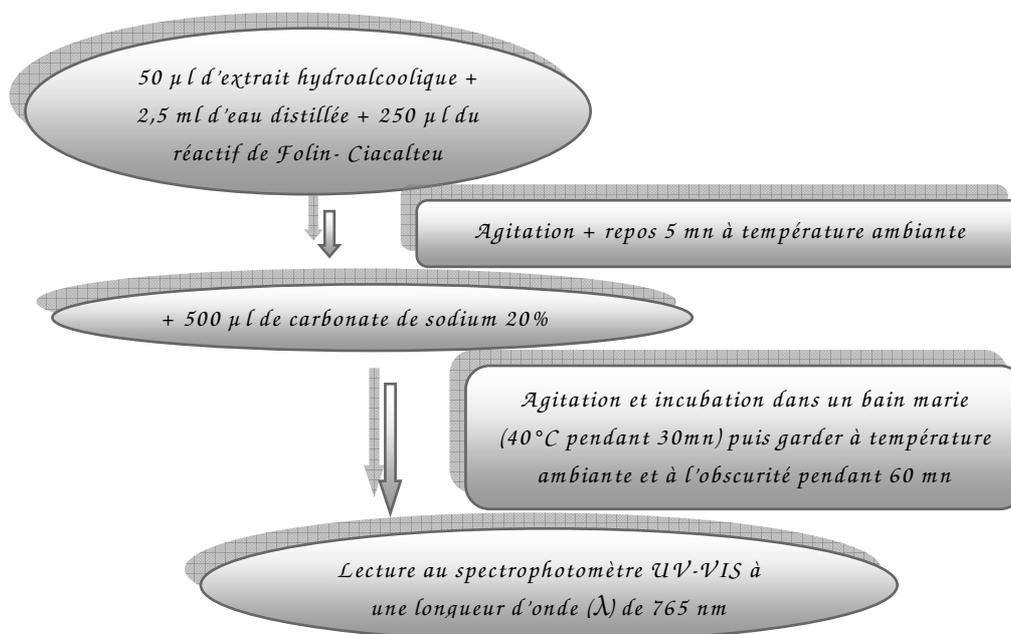


Figure 28: Protocole de dosage des phénols totaux (El Hadrami et al., 1997)

2.1.2.2. Courbe d'étalonnage

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul et al., 2008).

Une courbe d'étalonnage réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations (0- 100- 200- 300- 400- 500 milligrammes par litre (mg/l) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les extraits analysés servira à la quantification des phénols totaux (El Hadrami et al., 1997).

2.1.3. Dosage des flavonoïdes

2.1.3.1. Protocole

La quantification du contenu flavonique des feuilles des plantes étudiées est estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (El Hadrami et al., 1997).

500 μl d'extrait hydroalcoolique sont mélangés à 1500 μl d'eau distillée et 150 μl de nitrate de sodium à 5%. On laisse reposer le mélange 5 mn à température ambiante et à l'obscurité. Ce mélange est ensuite additionné à 150 μl de trichlorure d'aluminium à 10%. Après un repos de 11 mn à l'obscurité ; 500 μl de soude (1M) est ajouté. Le mélange est soumis à une agitation au vortex. La densité optique est lue à une longueur d'onde (λ) de 510 nm. Les différentes étapes de dosage sont représentées par la figure 29.

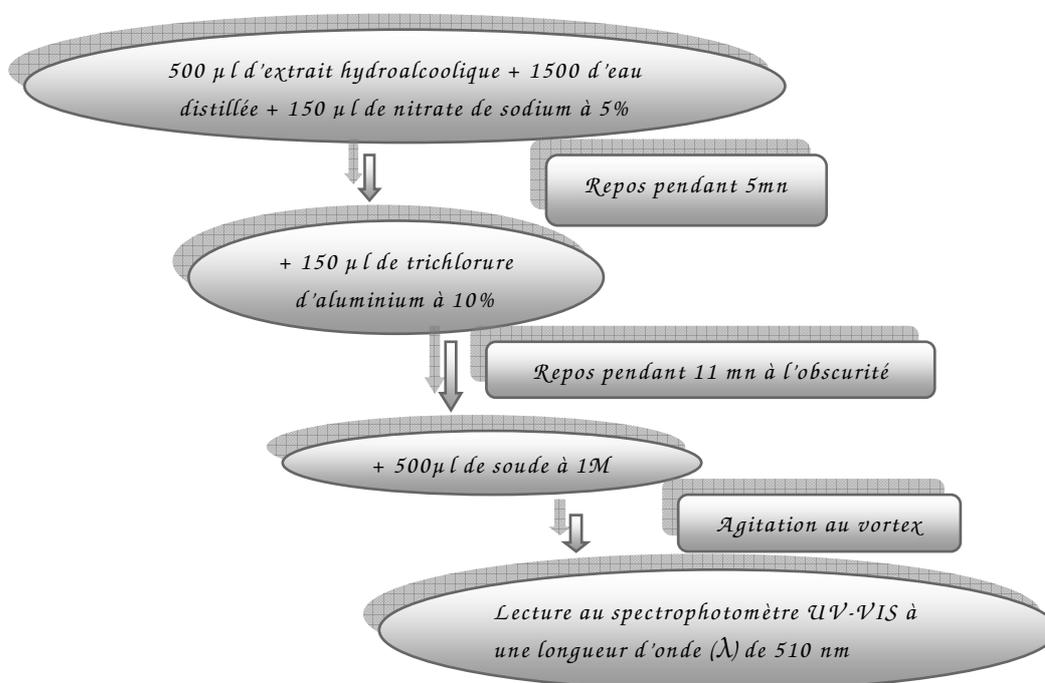


Figure 29: Protocole de dosage des flavonoïdes (El Hadrami et al., 1997)

2.1.3.2. Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage réalisée par la catéchine à différentes concentrations (0- 10- 20- 30- 40- 50 mg/l) pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons servira à la quantification des flavonoïdes.

2.2. Dosage des tanins

2.2.1. Tanins condensés

La méthode utilisée est celle proposée par Swain et Hillis (1959). Elle est basée sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (Price et al., 1978).

0,2 gr de poudre végétale sont macérés pendant 18h dans 10 ml de méthanol (80%). Après filtration du mélange, 1 ml du filtrat est additionné à 2 ml d'une solution préparée à base de vanilline à 1% dans l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 70%. La solution ainsi obtenue est placée dans un bain- marie pendant 15 mn à $20^\circ C$ à l'abri de la lumière avant de lire sa densité optique à une longueur d'onde (λ) de 500 nm. Les tanins condensés sont exprimés par la formule:

$$T (\%) = (5,2 \times 10^{-2} \times D.O \times V) / P$$

Avec: $5,2 \times 10^{-2}$: constante exprimée en équivalent de cyanidines, **D.O**: densité optique, **V**: volume d'extrait utilisé, **P**: poids de l'échantillon.

Le protocole de dosage des tanins condensés est illustré par la figure 30.

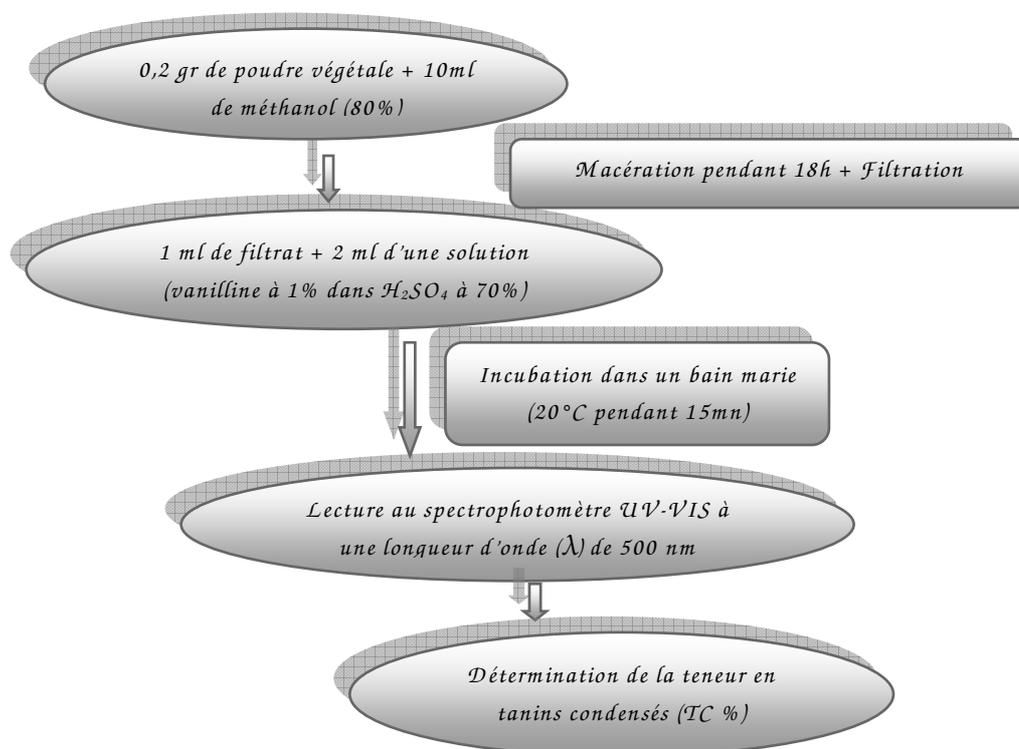


Figure 30: Protocole de dosage des tanins condensés (Swain et Hillis, 1959)

2.2.2. Tanins hydrolysables

La quantification du contenu tannique des feuilles des plantes étudiées est estimée par la méthode de Mole et Waterman (1987). Cette méthode est basée sur une réaction avec le trichlorure ferrique, le mélange d'extrait tannique plus le réactif du $FeCl_3$ provoque une coloration rouge violette du complexe d'où la formation des ions Fe^{+3} .

0,2 gr de feuilles broyées sont macérés pendant 18h dans 10 ml de méthanol (80%). Après macération, le mélange est filtré. 1ml du filtrat est additionné à 3,5 ml d'une solution préparée à base de trichlorure ferrique ($FeCl_3$) (0,01M) dans l'acide chlorhydrique (HCl) (0,001M). La densité optique du mélange est lue

à une longueur d'onde (λ) de 660 nm. Les tanins hydrolysables sont exprimés par la formule suivante :

$$T (\%) = (D.O \times M \times V) / E \text{ mole} \times P$$

Avec: **D.O**: densité optique, **E moles**: 2169 de l'acide ellagique (constante exprimée en mole), **M**: masse = 300, **V**: volume d'extrait utilisé, **P**: poids de l'échantillon.

Le protocole de dosage des tanins hydrolysables est mentionné dans la figure 31.

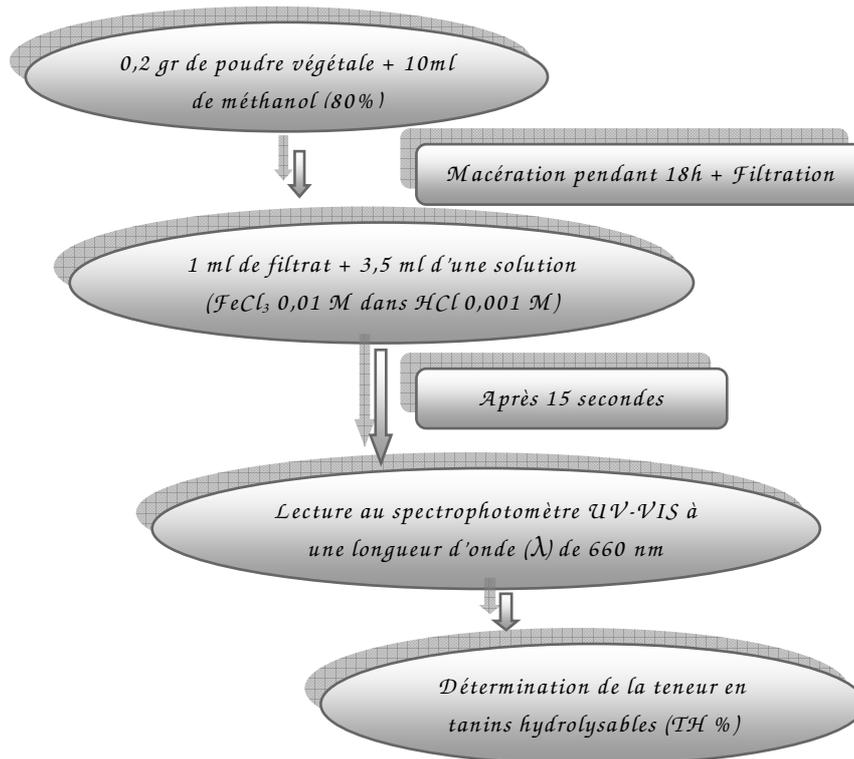


Figure 31: Protocole de dosage des tanins hydrolysables (Mole et Waterman, 1987)

2.3. Traitement statistique des résultats biochimiques

La comparaison des teneurs moyennes en composés phénoliques dosés sur les feuilles des six labiées étudiées a été effectuée par l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA 1).

Nous considérons que les différences sont:

- significatives quand la probabilité (p) $\leq 0,05$
- hautement significatives si $p \leq 0,01$
- très hautement significatives quand $p \leq 0,001$
- si $p > 0,05$, les différences sont par contre non significatives.

Les données enregistrées ont été soumises également à une analyse en composantes principales (ACP) en vue de synthétiser l'information contenue dans un tableau croisant des individus et des variables quantitatives (Ali Kouani et *al.*,

2007). On a utilisé le logiciel STATISTICA 6 version 6.31.100.1190. Cette ACP a été employée également dans le but de visualiser les affinités existantes entre les compositions phénoliques (variables quantitatives) et les espèces choisies (individus).

3. Screening (criblage) phytochimique et caractérisation des substances présentes dans les extraits

Les essais phytochimiques de caractérisation permettent d'avoir des informations préliminaires sur les compositions chimiques des espèces étudiées. Ces essais ont été faits en utilisant principalement les réactions en tube sur les infusés à 10%.

Les résultats sont classés selon l'apparition en :

- Réaction franchement positive: +++
- Réaction positive: ++
- Réaction moyennement positive: +
- Réaction louche: ±
- Réaction négative: -

3.1. Caractérisation des tanins

Introduire dans un tube l'infusé à 10% (5 ml) et 1 ml de la solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1%. La présence de la coloration verdâtre ou bleu noirâtre dans le tube à essai indique leur présence (Niare, 2005).

3.1.1. Tanins catéchiques (Réaction de Stiasny)

A l'infusé à 10% (30 ml), ajouter du réactif de Stiasny (15 ml) (10 ml de formol à 40 % + 5 ml d'HCl concentré), chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

3.1.2. Tanins galliques

Saturer le filtrat de la réaction précédente avec l'acétate de sodium pulvérisé puis ajouter quelques gouttes d'une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1%. Le développement d'une teinte bleu noire indique la présence de tanins galliques.

3.2. Caractérisation des flavonoïdes

A 1 ml d'extrait, on ajoute 5ml d'alcool à 50% puis 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. Une coloration orange, rouge ou rose apparaît en présence des flavonoïdes (Diallo, 2005).

3.3. Caractérisation des flavanes

2 ml d'infusé à 10% sont mélangés dans de l'acide chlorhydrique concentré renfermant 2% de vanilline (2gr de vanilline dans 10 ml d'acide chlorhydrique).

L'apparition d'une coloration rouge indique que la réaction est positive (Senhadji *et al.*, 2005).

3.4. Caractérisation des saponosides

Leur présence est déterminée par le calcul de l'indice de mousse (IM). Dans une série de 5 tubes à essai, sont introduits successivement 1 à 5 ml de chaque extrait. Tous les tubes sont complétés à 10 ml avec de l'eau distillée et agités vigoureusement dans le sens de la longueur pendant 15 secondes (Dohou *et al.*, 2003).

Après un repos de 10 minutes, on détermine la hauteur en cm de la mousse persistante pour chaque tube. On note le numéro du premier tube qui présente une hauteur de la mousse proche de 1 cm puis on calcule l'indice de mousse selon la formule :

$$IM = (\text{hauteur de la mousse du tube noté (en cm)} \times 5) / 0,0X$$

X : numéro du tube noté.

Quand $IM > 100$: présence des saponines.

3.5. Caractérisation des substances stéroliques

La mise en évidence des stérols est fondée sur la réaction de Lieberman (1885)-Burchard (1890). 3 gr de chaque poudre végétale sont mis à macérer dans 15 ml de chloroforme pendant 20 min. Le mélange est ensuite filtré puis concentré à 2 ml. 1 ml d'anhydride acétique, puis 1 ml d'acide sulfurique concentré sont successivement additionnés. La présence des composés stéroliques donne une coloration rouge-brune virant au brun-violacé.

3.6. Caractérisation des alcaloïdes

Elle est effectuée sur des réactions de précipitation avec le révélateur des alcaloïdes: le réactif de Wagner. On introduit dans un tube à essai 1 ml d'extrait, on ajoute 3 ml d'HCl (2N) puis 20 gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'une floculation ou d'un précipité indique la présence d'alcaloïdes (Fong *et al.*, 1977).

3.7. Détection des coumarines

Des infusés à 10% de chaque extrait sont mis dans des tubes et exposés à la lumière UV en utilisant une lampe ($\lambda = 365$ nm). L'apparition d'une intense fluorescence bleue ou verte indique la présence de coumarines et leurs dérivés. On s'assure auparavant que les tubes ne présentent pas de fluorescence à vide (Senhadji *et al.*, 2005).

Remarque: d'autres composés présentent également une fluorescence nette aux UV. Cette mise en évidence ne correspond donc qu'à une indication, et non pas une identification.

3.8. Recherche des anthocyanes

2 ml d'infusé à 10% sont ajoutés à 2 ml d'acide chlorhydrique 2 N. l'apparition d'une couleur rose rouge qui vire au bleu-violacé après addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Senhadji et *al.*, 2005).

3.9. Recherche des proanthocyanidols

À 2 ml d'infusé sont additionnés 2 ml d'acide chlorhydrique concentré, le tout est laissé pendant 5 mn dans un bain marie bouillon ; l'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive (Senhadji et *al.*, 2005).

4. Activités biologiques

4.1. Préparation des extraits

Les extraits aqueux et éthanoliques ont été préparés à raison de 15 gr de poudre pour 100 ml d'eau ou d'éthanol:

- Pour l'infusion, la poudre est infusée durant 24h dans l'eau distillée puis filtrée;
- Pour la décoction, la poudre mélangée à l'eau bouillante est portée à ébullition pendant quinze minutes, puis filtrée.
- Concernant l'extraction à l'éthanol, la poudre est macérée 24h dans l'éthanol absolu à l'obscurité. Après filtration, le solvant est évaporé à sec et sous vide au rotavapor (HAHN SHIN - 3001) à 37°C. L'extrait est ensuite repris dans 5 ml d'eau distillée stérile.

La filtration des différents extraits est assurée par filtration sous vide avec une pompe à eau et un filtre Millipore de porosité 1 µm (Sqalli et *al.*, 2007).

Tous les extraits ont été lyophilisés (lyophilisateur CHRIST Alpha 1-4 LD plus) pour permettre la préparation des différentes concentrations.

Le rendement des extraits éthanoliques, décoctés et infusés a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M/M_0) \times 100$$

Avec: **R (%)**: Rendement exprimé en %; **M**: Masse en gramme de l'extrait sec résultant; **M₀**: Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

4.2. Les tests microbiologiques

Les effets antibactérien et antifongique des extraits de six espèces étudiées ont été réalisés dans le laboratoire de bactériologie de la Faculté de Médecine à l'université de Djillali Liabès (Sidi Bel Abbès).

4.2.1. Les souches microbiennes testées

Les activités antibactérienne et antifongique des différents extraits des six espèces sont évaluées sur les cinq souches suivantes:

- **Bactéries**

- ✓ ***Escherichia coli* (ATTC 25922)**

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich (Grimont, 1987).

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* (Nataro *et al.*, 2007). Il s'agit d'un bacille Gram négatif, en forme de bâtonnet, asporulé, qui peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches ou être non mobile (Farmer *et al.*, 2007). Elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies (Wilson *et al.*, 2001).

Cette bactérie est responsable de plusieurs infections nosocomiales. Elle provoque des diarrhées, des septicémies et des infections intestinales (Nauciel, 2000).

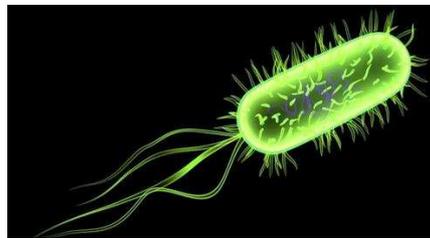


Figure 32: *Escherichia coli* (Web master 1)

- ✓ ***Bacillus cereus* (ATTC 10876)**

Les souches de *B. cereus* sont constituées de bacilles Gram positif de 1,4 μm habituellement observés en paires ou en chaînettes courtes (Murray *et al.*, 2007; Logan et Rodriguez-Diaz, 2006). *B. cereus* est anaérobie facultatif, mobile et capable de former des endospores, et ses colonies blanches d'aspect granuleux ont des dimensions entre 2 et 7 mm de diamètre (Ray, 2004).

B. cereus est responsable d'intoxications alimentaires spontanément résolutive (24-48 heures) de deux types (syndrome diarrhéique et syndrome émétique) ainsi que d'infections opportunistes; il est aussi associé à certaines infections cliniques comme l'endophtalmie et d'autres infections oculaires (Logan et Rodriguez-Diaz, 2006; Le Scanff *et al.*, 2006; Rosovitz *et al.*, 1998). *B. cereus* peut aussi être responsable d'infections des plaies, de bactériémies, de septicémies, de méningites, de pneumonies, d'infections du système nerveux central, d'endocardites, de péricardites, d'infections respiratoires et d'infections périphériques (Logan et Rodriguez-Diaz, 2006; Rosovitz *et al.*, 1998; Drobniowski, 1993).

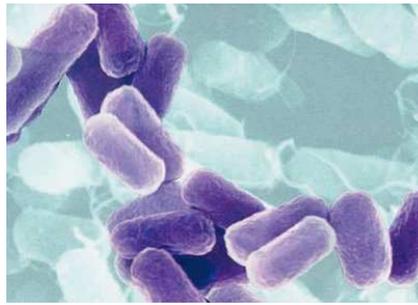


Figure 33: *Bacillus cereus* (Web master 2)

✓ ***Proteus mirabilis* (ATTC 35659)**

Proteus mirabilis est un bacille (en forme de bâtonnet) Gram négatif aérobie mobile qui fait partie de la famille des entérobactéries.

Elle est fréquemment en cause dans les infections des voies urinaires (IVU) compliquées. Les bacilles sont habituellement observés dans les voies urinaires hautes (siège fréquent de l'infection) et peuvent entraîner des urolithiases (formation de pierres dans le rein ou la vessie) et des cystites (Coker *et al.*, 2000).

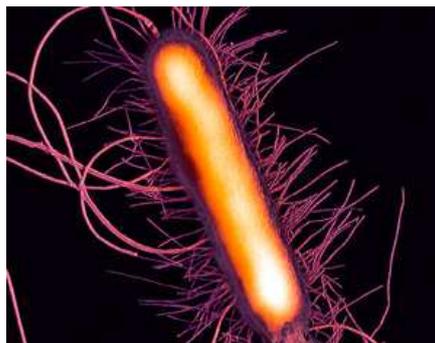


Figure 34: *Proteus mirabilis* (Web master 3)

• **Champignons**

✓ ***Candida albicans* (ATTC 10231)**

De la famille des *Candidaceae*, *Candida albicans* est un champignon diploïde et encapsulé (Hazen et Howell, 2007) classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu (Ryan, 2004).

La manifestation clinique la plus fréquente de l'infection à *C. albicans* est la candidose buccale, couramment appelée muguet, qui est caractérisée par la présence de plaques blanchâtres irrégulières uniques ou multiples sur la langue, le palais ou d'autres surfaces muqueuses buccales, aussi la candidose vaginale et la candidose œsophagienne (López-Martínez, 2010; Ryan, 2004).

Candida albicans peut aussi entraîner des infections des ongles, des atteintes superficielles des muqueuses, des infections cutanées consécutives à une macération de la peau (plis inguinaux et région fessière, chez le jeune enfant) et

des infections oculaires (endophtalmies) (López-Martínez, 2010; Ryan, 2004; Schell, 2006).

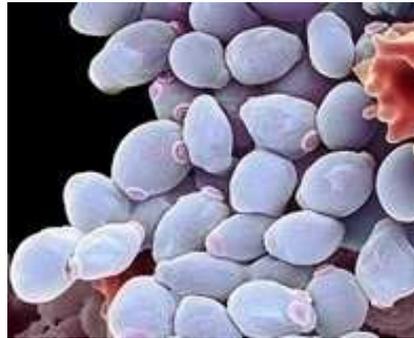


Figure 35: *Candida albicans* (Kabir et al., 2012)

✓ *Aspergillus brasiliensis* (ATTC 16404)

Ce champignon est responsable d'infections cutanées, pulmonaires ou généralisées. Au niveau morphologique, il se caractérise par des têtes aspergillaires radiées, bisériées, noires à maturité.

Cette espèce est extrêmement commune dans le monde entier. Ce champignon est omnivore et peut contaminer les substrats les plus divers.

Les colonies de cette souche apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires. En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brun-noir, qui sont généralement disposées en cercles concentriques. Le verso est incolore à jaune. Un exsudat jaune pâle peut être produit en toutes petites gouttelettes. Cette espèce a une croissance rapide, avec un optimum thermique compris entre 25 et 30°C, mais il peut pousser jusqu'à 42°C (Quatresous, 2011).



Figure 36: *Aspergillus brasiliensis* (Web master 4)

4.2.2. Les milieux de culture

Pour les meilleures performances des méthodes utilisées dans les essais et selon les souches, nous avons choisi et utilisé les milieux de culture suivants:

- gélose de Mueller Hinton pour la culture des bactéries,
- gélose de Sabouraud pour la culture des champignons.

4.2.3. Tests du pouvoir antibactérien et antifongique des différents extraits

4.2.3.1. Préparation des solutions

4.2.3.1.1. Solutions mères

2,5 mg de chaque extrait lyophilisé (extrait éthanolique, décocté et infusé) des six espèces étudiées sont introduit dans un tube étiqueté, dans lequel nous avons ajouté 1 ml de diméthylformamide (DMF), solvant dépourvu de tout effet antimicrobien. Les tubes sont agités au vortex jusqu'à dissolution totale de l'extrait.

4.2.3.1.2. Solutions diluées

Les dilutions sont préparées de façon à obtenir des concentrations au 1/2, 1/4, 1/6, 1/8 et 1/10 à partir de la solution mère.

4.2.3.2. Test antibactérien et antifongique

Le test de la sensibilité des bactéries et des champignons est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (la méthode des disques). C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche microbienne vis-à-vis d'une ou de plusieurs substances (Essawi et Srour, 2000; Bssaibis *et al.*, 2009).

4.2.3.2.1. Principe

Un disque imprégné du composé à tester est placé sur le milieu de culture préalablement inoculée avec la souche, le produit diffus radialement du disque dans la gélose en formant ainsi un gradient de concentration. Après incubation à 37°C pendant 24h (Bactéries) ou 25°C pendant 48h (Champignons), si la molécule est toxique pour l'espèce microbienne, il se forme une zone ou un halo autour du disque. Plus grande est cette zone, plus l'espèce est sensible. Cette zone claire illustre l'inhibition et évalue l'efficacité du produit testé. Des disques témoins imprégnés d'antibiotique ou d'antifongique sont inclus dans les essais.

4.2.3.2.2. Préparation de l'inoculum

L'inoculum des champignons se prépare de la même façon que celui des bactéries, en prenant cinq tubes qui contiennent chacun 5 ml d'eau physiologique stérile. À l'aide d'une anse en platine, on fait racler quelques colonies bien isolées de chacun des bactéries ou champignons qui vont être déchargés chacun dans un tube.

4.2.3.2.3. Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum. Dans 90 boîtes de Pétri stériles (18 pour chaque souche (3 extraits

pour chaque espèce)), on verse 20 ml de gélose. Après solidification du milieu, ce dernier est inoculé avec 1 ml de bactéries ou bien 4 gouttes pour les champignons à étudier. Ensuite, on étale en surface à l'aide d'un râteau en verre.

4.2.3.2.4. Dépôt des disques et incubation

Des disques stériles de 5 mm de diamètre préparés en papiers Whatman n°1 sont imprégnés à l'aide d'une pince métallique stérile dans chaque concentration et disposées sur la surface du milieu solidifié. Les boîtes ont été incubées pendant une demi-heure à température ambiante, ensuite pendant 24 à 48 heures dans une étuve à 37°C.

4.2.3.2.5. Expression des résultats

La détermination de l'activité antibactérienne ou antifongique a été faite en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

4.2.4. Sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques

Le test de la sensibilité des bactéries et des champignons vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques (tableau 14) est réalisé par la même méthode utilisée pour les tests antimicrobiens des différents extraits.

Tableau 14: Les antibiotiques et les antifongiques utilisés

Les antibiotiques	Signes	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)
Imipenème	IPM	10
Ceftazidime	CAZ	30
Gentamicine	CN	10
Chloramphenicol	C	30
Acide nalidixique	NA	30
Aztréoname	ATM	30
Les antifongiques	Signe	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)
Fluconazole	FLC	10/20/50/100
Amphotéricine	AMB	10/20/50/100
Terbinafine	TER	10/20/50/100

4.2.5. Classement des souches testées selon leurs sensibilités aux antibiotiques et aux extraits

La catégorisation de souches bactériennes et fongiques lors de l'antibiogramme, de l'antifongigramme et vis-à-vis des extraits s'effectue comme suit :

- Souches sensibles (+): $D \geq 10$ mm (D: Diamètre d'inhibition)
- Intermédiaires (\pm): $D < 10$ mm
- Résistantes (-): $D=0$

4.3. Activité antioxydante

4.3.1. Evaluation de l'effet antioxydant des extraits

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée selon la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Sanchez-Moreno et al., 1998).

Dans ce test, les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl de couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine.

50 μ l de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (2- 1- 0,5- 0,25- 0,125- 0,0625 mg/ml) sont ajoutés à 1950 μ l de la solution méthanolique du DPPH (0,0025g/l).

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 mn d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

L'activité de radical-balayage de DPPH (%) = $[(Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{échantillon testé}}) / Abs_{\text{blanc}}] \times 100$.

Abs_{blanc} : absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs sauf l'extrait).

Pour chaque extrait, nous avons déterminé la valeur IC_{50} , concentration de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (Samarth et al., 2008).

Les résultats sont aussi exprimés en puissance antiradicalaire (Brand-Williams et al., 1995).

$ARP = 1 / IC_{50}$ (ARP : Puissance anti radicalaire; IC_{50} : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH).

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les résultats exprimés sont la moyenne de trois mesures effectuées.

4.4. Traitement statistique

La comparaison des résultats de l' IC_{50} des extraits éthanolique, décocté et infusé des six taxons retenus a été effectuée par l'analyse en composantes principales (ACP) en utilisant le logiciel STATISTICA 6 version 6.31.100.1190.

La comparaison des résultats des effets antibactérien et antifongique des extraits éthanolique, décocté et infusé des espèces étudiées a été effectuée par l'analyse en composantes principales (ACP).

5. Étude anatomique

L'étude anatomique et histologique des feuilles de *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L. a été réalisé dans le laboratoire d'Anatomie-Pathologie (ANAPAT) au niveau de centre hospitalo- universitaire Abdelkader HASSANI de Sidi Bel Abbés durant le mois de Mai 2014.

5.1. Matériel

5.1.1. Matériel végétal

Les feuilles sont découpées en petits fragments puis conservées dans l'éthanol à 70% à 4°C jusqu'au jour de leurs utilisations pour les coupes au microtome.

5.1.2. Matériel de laboratoire

- Eau distillée
- Formaldéhyde à 36%
- Formol
- Éthanol à différentes concentrations : 75% -95% -100%
- Toluène ou xylène
- Paraffine
- Acétone
- Étuve
- Microtome
- Lames et lamelles
- Porte- lames
- Pincés métalliques
- Bain marie
- Colorant: Hématoxyline-éosine

5.2. Méthode

Pour réaliser des coupes au microtome, nous avons suivi la méthode présentée par Nougarede (1969). Elle se fait en plusieurs étapes:

5.2.1. Fixation des échantillons

Les échantillons sont plongés dans une solution de fixation, pendant 8h. La fixation permet de tuer les cellules sans altérer sensiblement leur structure. Le formaldéhyde (à 36,99%) a été utilisé comme fixateur.

5.2.2. Déshydratation et imprégnation des échantillons

Après la fixation, les échantillons sont soigneusement lavés à l'eau courante, déshydraté et imprégné par passages progressifs dans 12 bains différents (tableau 15):

Tableau 15: Protocole de déshydratation et imprégnation

Les bains	Produits	Durée
1 ^{er} bain	Formol 37%	1h 20
2 ^{ème} bain	Éthanol 95%	1h 30
3 ^{ème} bain	Éthanol 95%	1h 30
4 ^{ème} bain	Éthanol 100%	2h
5 ^{ème} bain	Acétone	1h 30
6 ^{ème} bain	Acétone	1h 30
7 ^{ème} bain	Acétone	1h
8 ^{ème} bain	Xylène	1h
9 ^{ème} bain	Xylène	1h
10 ^{ème} bain	Paraffine	1h
11 ^{ème} bain	Paraffine	1h 30
12 ^{ème} bain	Paraffine	1h 30

5.2.3. Préparation des blocs

Les divers échantillons sont placés, pour la réalisation de coupes transversales dans un petit moule rempli de paraffine fondue. Après refroidissement, les échantillons ainsi inclus peuvent se conserver.

5.2.4. Confection des coupes

Les coupes des échantillons inclus dans la paraffine sont effectuées au microtome à une épaisseur de 5 μm .

5.2.5. Montage des coupes sur lames

Les rubans de coupes sériées sont plongés dans un bain marie, puis déposés sur la lame. Ils seront ensuite séchés par papier filtre.

5.2.6. Déparaffinage et réhydratation des coupes

Les coupes sont disposées sur un plan incliné et sont égouttées pendant quelques minutes à l'étuve à 60°C.

Après le séchage, les coupes sont déparaffinées dans un bain de toluène pendant quelques secondes à quelques minutes. Une fois déparaffinées, les échantillons sont ensuite réhydratés dans les bains d'éthanol à degrés décroissant (100% - 95% - 75%) pendant 2 minutes puis rincés à l'eau distillée pendant 10 secondes.

5.2.7. Coloration à l'hématoxyline-éosine

Nous avons procédé à la coloration en appliquant la méthode selon les procédés suivants:

- trempage des coupes dans un bain d'hématoxyline Harris pendant 5 mn;
- rinçage à l'eau distillée pendant 10 secondes;
- trempage des lames dans un bain d'acide chlorhydrique pendant 8 secondes;
- trempage dans une solution de carbonate de lithium pendant 10 secondes;

- rinçage à l'eau distillée pendant 10 secondes;
- trempage des coupes dans une solution d'alcool 95° pendant 1 mn;
- coloration avec de l'éosine pendant 10 mn;
- trempage dans deux bains successifs de l'alcool 100°, pendant 2 mn pour chacun;
- trempage dans du toluène ou du xylène pendant 2 mn.

5.2.8. Montage et observation au microscope optique

Après chaque coloration, les lames sont montées dans une goutte d'Eukit entre lame et lamelle, pour être ensuite observées au microscope optique (OPTICA AXIOM 2000) à une camera digitale (DCM 130).

Chapitre III

Résultats & discussion

Résultats

1. Les polyphénols

1.1. Teneur en phénols totaux et flavonoïdes

Les résultats illustrés sur le tableau 16 et représentés par la figure 37 correspondent aux concentrations moyennes en phénols totaux et en flavonoïdes déterminés sur les feuilles de *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.

Tableau 16: Concentrations moyennes en phénols totaux et en flavonoïdes des feuilles des plantes (en mg/g de matière sèche \pm écart type)

Espèces	Concentrations moyennes en phénols totaux (mg EAG/g)	Concentrations moyennes en flavonoïdes (mg EAG/g)
<i>Phlomis crinita</i>	23,53 \pm 1,31	7,34 \pm 0,36
<i>Satureja calamintha</i>	17,60 \pm 0,54	5,84 \pm 0,41
<i>Origanum vulgare</i>	71,04 \pm 4,97	7,49 \pm 0,44
<i>Mentha pulegium</i>	63,50 \pm 3,35	4,29 \pm 0,40
<i>Thymus serpyllum</i>	52,45 \pm 3,29	6,43 \pm 0,15
<i>Thymus vulgaris</i>	57,97 \pm 1,48	5,87 \pm 0,28

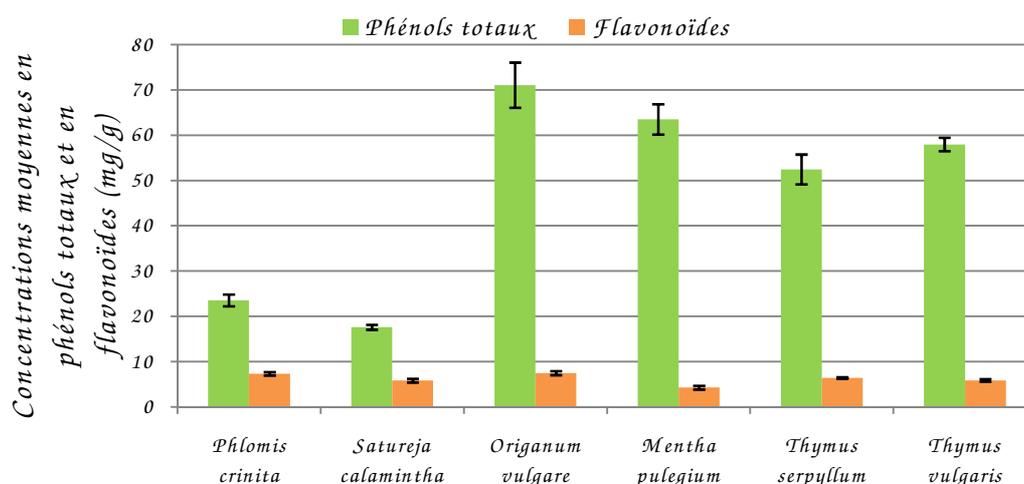


Figure 37: Concentrations moyennes en phénols totaux et en flavonoïdes des feuilles des six *Lamiaceae* étudiées (en mg/g de matière sèche \pm écart type)

Le tableau 16 et la figure 37 montrent que:

- Pour les phénols totaux, l'extrait de *Origanum vulgare* est le mieux représenté avec une concentration moyenne de 71,04 \pm 4,97 mg EAG/g, suivi par les extraits de *Mentha pulegium*, de *Thymus vulgaris*, de *Thymus serpyllum*, de *Phlomis crinita* et de *Satureja calamintha* avec des concentrations respectives de 63,50 \pm 3,35 mg EAG/g, 57,97 \pm 1,48 mg EAG/g, 52,45 \pm 3,29 mg EAG/g, 23,53 \pm 1,31 mg EAG/g et 17,60 \pm 0,54 mg EAG/g.

• En ce qui concerne les concentrations moyennes en flavonoïdes, les extraits de *Origanum vulgare* et de *Phlomis crinita* sont les plus riches avec des valeurs de $7,49 \pm 0,44$ mg EC/g et $7,34 \pm 0,36$ mg EC/g suivi respectivement par les extraits de *Thymus serpyllum*, de *Thymus vulgaris*, de *Satureja calamintha* et de *Mentha pulegium* avec des concentrations moyennes de $6,43 \pm 0,15$ mg EC/g, $5,87 \pm 0,28$ mg EC/g, $5,84 \pm 0,41$ mg EC/g et $4,29 \pm 0,40$ mg EC/g de matière sèche.

Les concentrations moyennes en phénols totaux caractérisant les extraits obtenus à partir des feuilles des espèces étudiées ont été évaluées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique 0 à 500 mg/l et sont exprimés en mg/l (Figure 38).

Les quantités des flavonoïdes ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage établie à partir de solutions de différentes concentrations de catéchine (Figure 39).

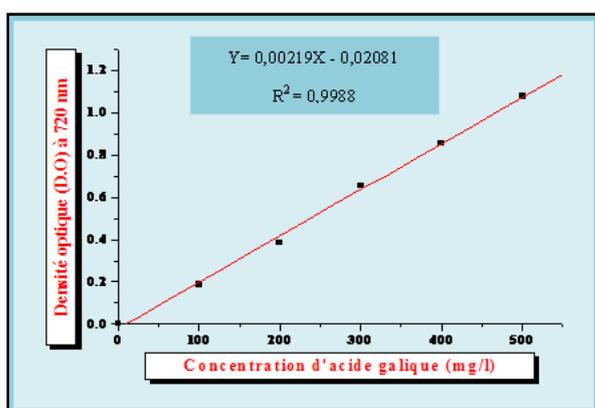


Figure 38: Courbe d'étalonnage des phénols totaux réalisée par l'acide gallique

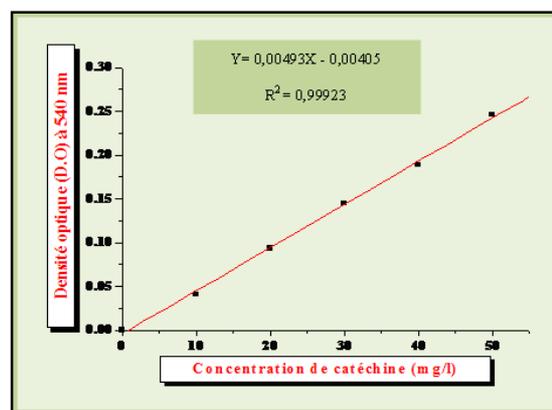


Figure 39: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée par la catéchine

1.2. Quantification des tanins condensés et tanins hydrolysables

Les résultats du dosage des tanins condensés et tanins hydrolysables sont mentionnés sur le tableau 17 et représentés par la figure 40.

Tableau 17: Teneurs moyennes des tanins condensés et tanins hydrolysables des feuilles des espèces étudiées (en % \pm écart type)

Espèces	Teneurs moyennes en tanins condensés (%)	Teneurs moyennes en tanins hydrolysables (%)
<i>Phlomis crinita</i>	$0,828 \pm 0,061$	$0,139 \pm 0,007$
<i>Satureja calamintha</i>	$1,794 \pm 0,010$	$0,115 \pm 0,005$
<i>Origanum vulgare</i>	$1,232 \pm 0,148$	$0,096 \pm 0,006$
<i>Mentha pulegium</i>	$1,059 \pm 0,087$	$0,129 \pm 0,006$
<i>Thymus serpyllum</i>	$1,220 \pm 0,026$	$0,095 \pm 0,003$
<i>Thymus vulgaris</i>	$0,564 \pm 0,070$	$0,085 \pm 0,007$

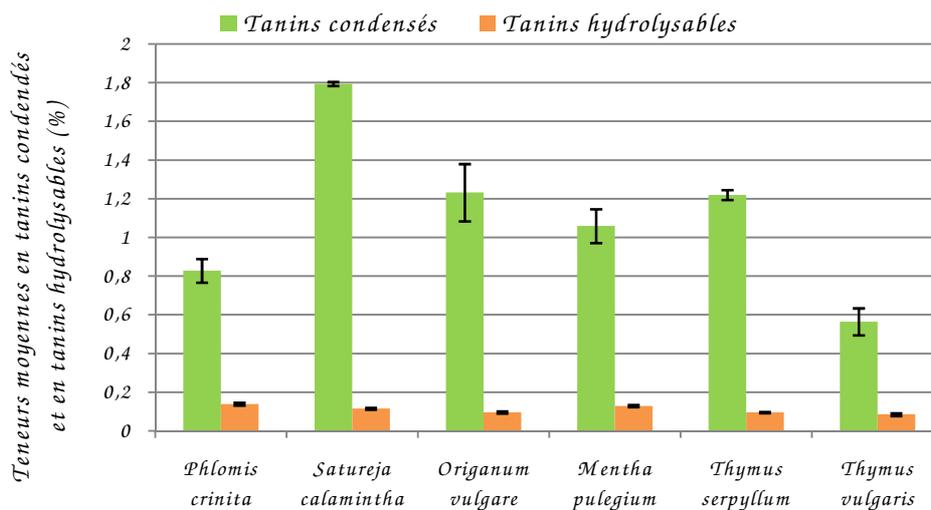


Figure 40: Teneurs moyennes en tanins condensés et en tanins hydrolysables des feuilles des plantes étudiées (en % ± écart type)

Les résultats illustrés dans le tableau 17 et représentés par la figure 40 montrent que:

- Parmi les extraits des six espèces étudiées, l'extrait de *Satureja calamintha* est celui qui a enregistré la teneur la plus élevée en tanins condensés avec un pourcentage de $1,794 \pm 0,010$ %, suivi respectivement par les extraits de *Origanum vulgare*, de *Thymus serpyllum*, de *Mentha pulegium*, de *Phlomis crinita* et de *Thymus vulgaris* avec des teneurs moyennes de $1,232 \pm 0,148$ %, $1,220 \pm 0,026$ %, $1,059 \pm 0,087$ %, $0,828 \pm 0,061$ % et $0,564 \pm 0,070$ %.

- Pour les teneurs en tanins hydrolysables, l'extrait de *Phlomis crinita* est le mieux représenté avec un pourcentage de $0,139 \pm 0,007$ %, suivi par les extraits de *Mentha pulegium* ($0,129 \pm 0,006$ %), de *Satureja calamintha* ($0,115 \pm 0,005$ %), de *Origanum vulgare* ($0,096 \pm 0,006$ %), de *Thymus serpyllum* ($0,095 \pm 0,003$ %) et de *Thymus vulgaris* ($0,085 \pm 0,007$ %).

1.3. Traitement statistique

1.3.1. Analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA 1)

L'analyse de la variance à un seul critère de classification représentée dans les tableaux 18-21 nous révèle des différences très hautement significatives ($***p < 0,001$) entre:

- ✓ Les concentrations moyennes en phénols totaux
- ✓ Les concentrations moyennes en flavonoïdes
- ✓ Les teneurs moyennes en tanins condensés
- ✓ Les teneurs moyennes en tanins hydrolysables pour les six espèces choisies.

Tableau 18: Analyse de la variance à un seul critère de classification
(Phénols totaux)

Source des variations	Somme des carrés (SC)	Degré de liberté (DDL)	Moyenne des carrés (CM)	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre les espèces	7837,224383	5	1567,444877	122,74474	7,11575E-10	3,105875239
Entre les essais (A l'intérieur des espèces)	153,2394667	12	12,76995556			
Total	7990,46385	17				

Tableau 19: Analyse de la variance à un seul critère de classification
(Flavonoïdes)

Source des variations	Somme des carrés (SC)	Degré de liberté (DDL)	Moyenne des carrés (CM)	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre les espèces	20,7896	5	4,15792	25,780221	4,99422E-06	3,105875239
Entre les essais (A l'intérieur des espèces)	1,9354	12	0,161283333			
Total	22,725	17				

Tableau 20: Analyse de la variance à un seul critère de classification
(Tanins condensés)

Source des variations	Somme des carrés (SC)	Degré de liberté (DDL)	Moyenne des carrés (CM)	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre les espèces	262,2281833	5	52,4456367	53,643374	8,5505E-08	3,105875239
Entre les essais (A l'intérieur des espèces)	11,7320667	12	0,9776722			
Total	273,96025	17				

Tableau 21: Analyse de la variance à un seul critère de classification
(Tanins hydrolysables)

Source des variations	Somme des carrés (SC)	Degré de liberté (DDL)	Moyenne des carrés (CM)	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre les espèces	0,6904667	5	0,1380933	24,6106931	6,4076E-06	3,105875239
Entre les essais (A l'intérieur des espèces)	0,0673333	12	0,00561111			
Total	0,7578	17				

1.3.2. Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales croise les résultats du dosage des différents composés phénoliques (variables) avec les individus qui sont représentés par les espèces. Cette ACP a permis de mettre en évidence les affinités existantes entre les concentrations des polyphénols quantifiés avec les espèces étudiées.

Analyse du plan factoriel des individus (les espèces étudiées)

Au niveau du plan factoriel (F1×F2), 42,07 % de l'information est expliqué par l'axe F1 et 26,87 % donnée par l'axe F2.

La contribution des différents individus (tableau 22) et la ségrégation de l'ACP sur le plan factoriel (F1×F2) (figure 41) ont permis de mettre en évidence deux groupes principaux:

Le groupe 1 (Gr1): représenté par *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* et *Mentha pulegium*. Ce groupe réunit les espèces végétales les plus riches en polyphénols.

Le groupe 2 (Gr2): comporte *Phlomis crinita* et *Satureja calamintha*. Ces espèces montrent des teneurs en polyphénols moins importantes.

Les mêmes groupes sont confirmés par la même ACP au niveau du plan factoriel (F1×F4) (figure 42).

Tableau 22: Contribution des individus sur axes 1 et 2

Espèces (Individus)	Axe 1	Axe 2
<i>Phlomis crinita</i>	-1,22289	-0,67858
<i>Satureja calamintha</i>	-1,80188	-0,03873
<i>Origanum vulgare</i>	0,97946	-1,00203
<i>Mentha pulegium</i>	0,01805	1,94178
<i>Thymus serpyllum</i>	0,44020	-0,34861
<i>Thymus vulgaris</i>	1,58706	0,12617

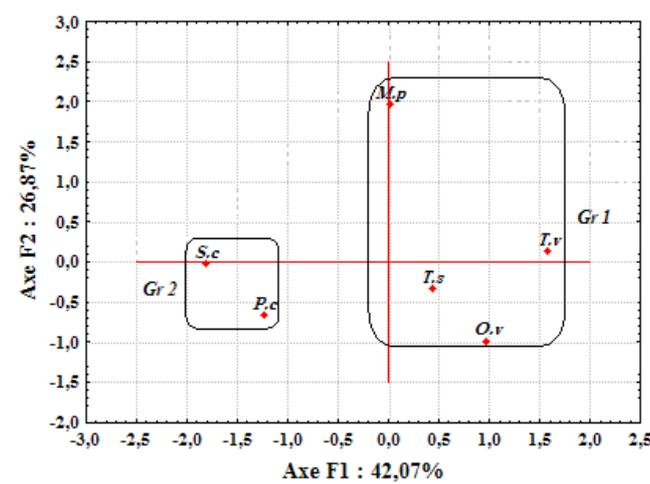


Figure 41: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F2)

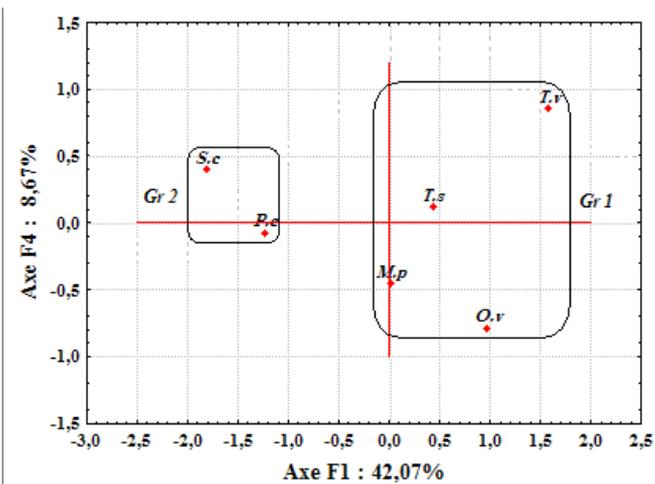


Figure 42: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F4)

Gr: Groupe, **P.c.:** *Phlomis crinita*, **S.c.:** *Satureja calamintha*, **O.v.:** *Origanum vulgare*, **M.p.:** *Mentha pulegium*, **T.s.:** *Thymus serpyllum*, **T.v.:** *Thymus vulgaris*.

2. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique a permis de caractériser quelques métabolites secondaires existants dans les feuilles de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris*. Les résultats sont illustrés sur le tableau 23 et représentés chez la planche I.

Tableau 23: Screening phytochimique des espèces étudiées

Espèces Composés	<i>Phlomis crinita</i>	<i>Satureja calamintha</i>	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Thymus serpyllum</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
Tanins	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Tanins catéchiques	++	++	++	+	++	+
Tanins galliques	-	-	-	-	-	-
Coumarines	+++	+++	+++	++	±	+
Flavonoïdes	++	++	++	+	++	+
Flavanes	-	+++	-	++	-	-
Anthocyanes	++	+	++	-	±	-
Proanthocyanidols	-	+++	+	-	++	-
Alcaloïdes	+	-	++	+	+	+
Saponosides	++	±	+	±	+++	±
IM (Indice de mousse)	175	50	100	75	550	25
Composés stéroliques	+	-	+	-	+	±

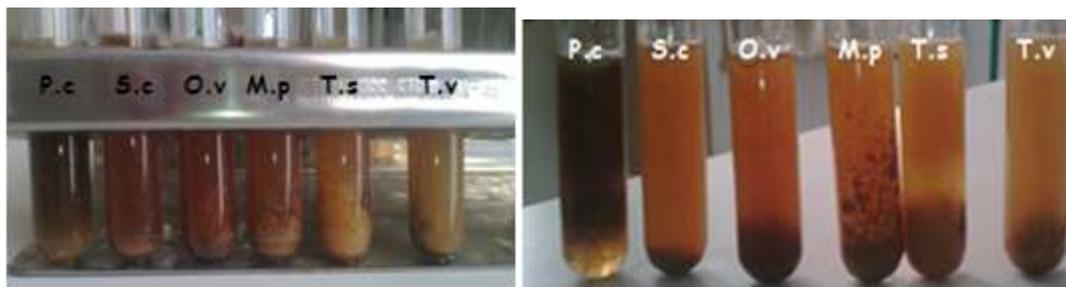
Planche I: Photos montrant le screening phytochimique de quelques composés des six plantes étudiées



Témoin



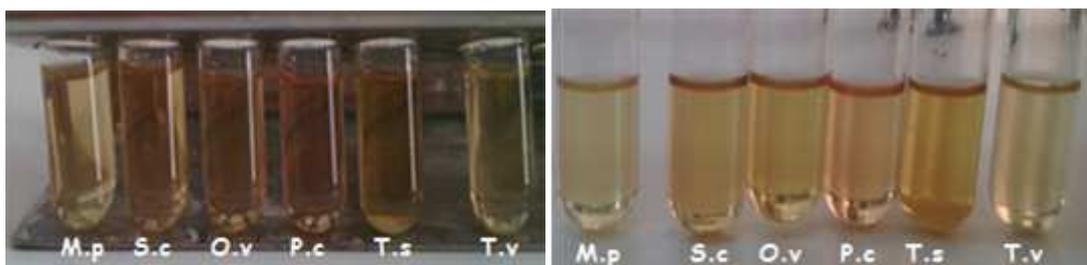
Tanins



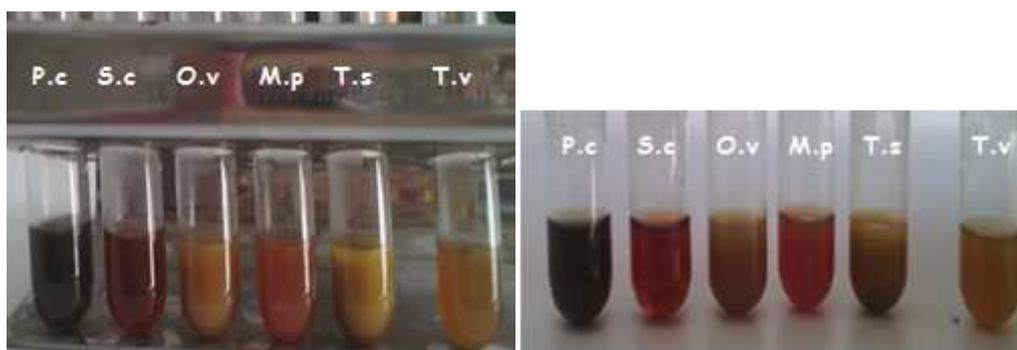
Tanins catéchiques



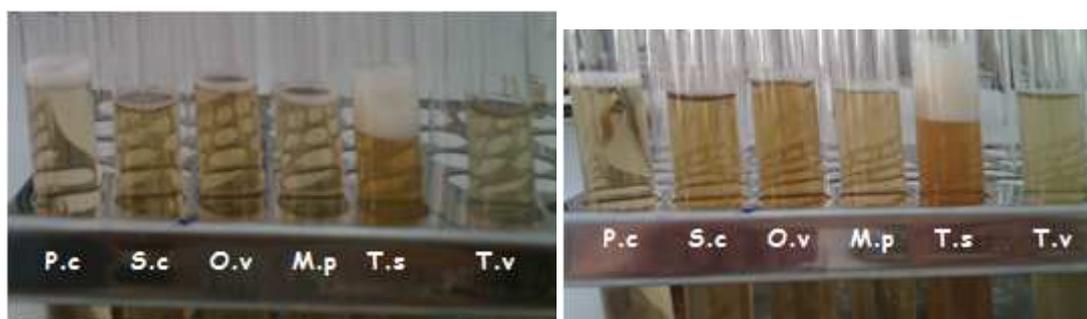
Tanins galliques

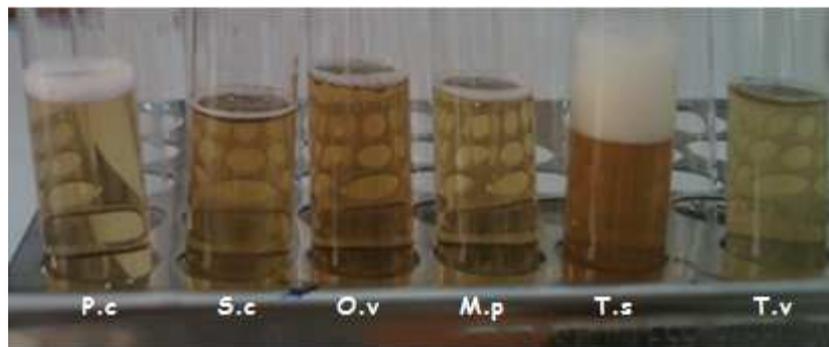


Flavonoïdes

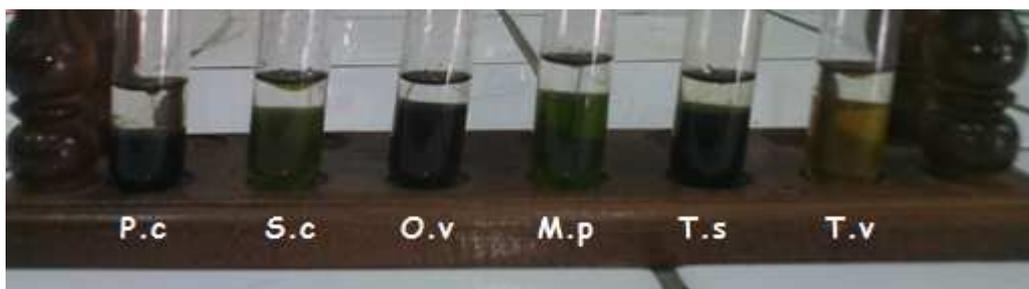


Flavanes

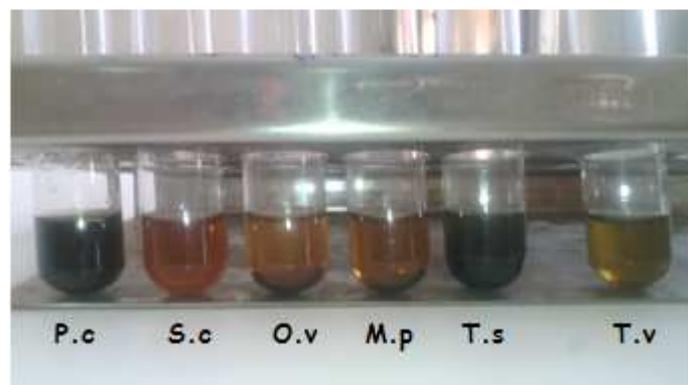




Saponosides



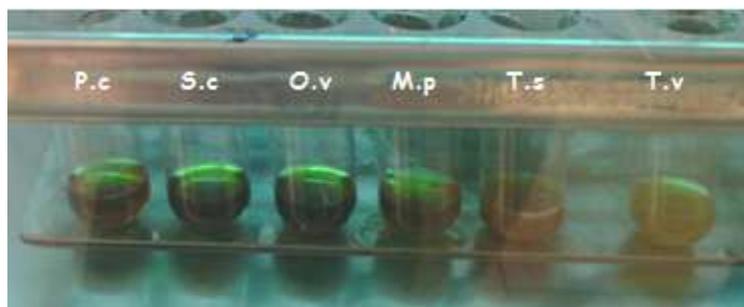
Substances stéroliques



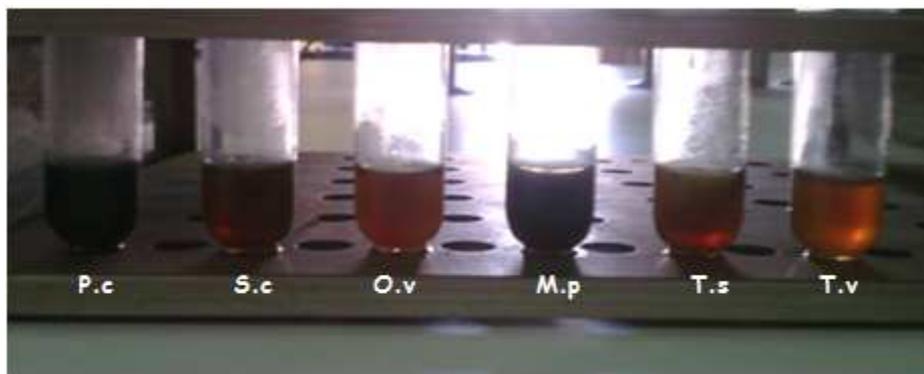
Alcaloïdes



Anthocyanes



Coumarines



Proanthocyanidols

Les tests du screening phytochimiques illustrés par le tableau 23 et représentés par la planche I font ressortir les résultats suivants:

- ✓ La présence des flavonoïdes et des tanins catéchiques chez toutes les espèces étudiées.
- ✓ L'absence des tanins galliques dans toutes les plantes.
- ✓ La présence des coumarines dans toutes les espèces étudiées sauf chez *Thymus serpyllum* où on observe une réaction louche.
- ✓ La présence des flavanes chez *Satureja calamintha* et *Mentha pulegium*.
- ✓ Une réaction positive pour les anthocyanes dans les extraits de *Phlomis crinita* et *Origanum vulgare*, réaction moyennement positive pour l'espèce *Satureja calamintha* et réaction louche chez *Thymus serpyllum*.
- ✓ La présence des proanthocyanidols chez *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare* et *Thymus serpyllum*.
- ✓ La présence des alcaloïdes dans toutes les espèces sauf chez *Satureja calamintha*.
- ✓ La présence des saponosides dans *Phlomis crinita*, *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum* et une réaction louche pour *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* et *Thymus vulgaris*.
- ✓ Une réaction positive pour les composés stéroliques chez les espèces: *Phlomis crinita*, *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum* et une réaction louche dans l'extrait de *Thymus vulgaris*.

3. Activités biologiques

3.1. Préparation des extraits

Les différents extraits obtenus après lyophilisation ont été pesés pour déterminer le poids sec. Les rendements ont été déterminés par rapport au poids total de la matière végétale (feuilles des espèces étudiées) réduite en poudre. Le rendement, l'aspect et la couleur de chaque extrait sont représentés dans le tableau 24.

Tableau 24: Aspects, couleurs et rendements des extraits des six espèces étudiées

Espèces	Type d'Extrait	Aspects	Couleurs	Rendements (%)
<i>Phlomis crinita</i>	Éthanolique	Huileux	Vert foncé	3,20
	Décocté	Pâteux	Marron	6,12
	Infusé	Pâteux	Marron	8,17
<i>Satureja calamintha</i>	Éthanolique	Poudre	Vert clair	4,40
	Décocté	Poudre	Marron	6,99
	Infusé	Poudre	Marron foncé	10,64
<i>Origanum vulgare</i>	Éthanolique	Huileux	Vert foncé	1,28
	Décocté	Poudre	Marron	4,55
	Infusé	Poudre	Marron	14,91
<i>Mentha pulegium</i>	Éthanolique	Huileux	Vert foncé	3,34
	Décocté	Poudre	Marron clair	1,25
	Infusé	Poudre	Marron foncé	11,20
<i>Thymus serpyllum</i>	Éthanolique	Pâteux	Vert	4,33
	Décocté	Poudre	Marron	12,21
	Infusé	Poudre	Marron	9,62
<i>Thymus vulgaris</i>	Éthanolique	Pâteux	Vert clair	12,35
	Décocté	Poudre	Marron	7,22
	Infusé	Poudre	Marron	3,81

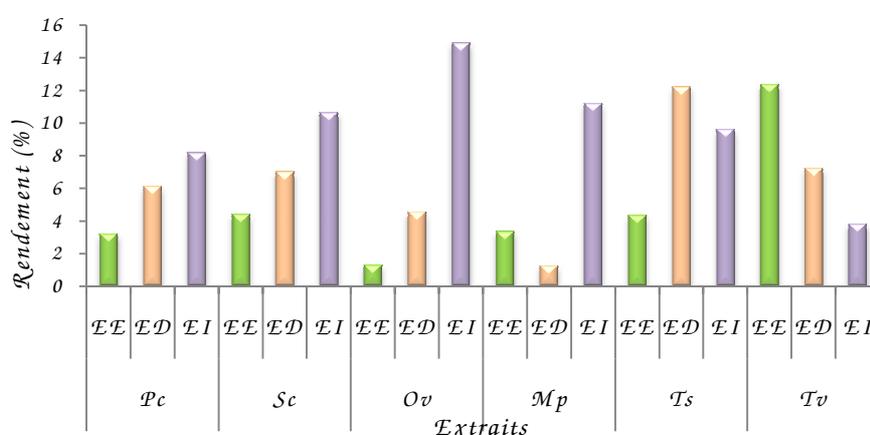


Figure 43: Rendements des différents extraits

Pc: *Phlomis crinita*, **Sc:** *Satureja calamintha*, **Ov:** *Origanum vulgare*, **Mp:** *Mentha pulegium*, **Ts:** *Thymus serpyllum*, **Tv:** *Thymus vulgaris*.

Les résultats représentés par le tableau 20 et la figure 43 montrent que:

- Les extraits éthanoliques, décoctés et infusés présentent plusieurs aspects : huileux, pâteux et en poudre et avec plusieurs couleurs: vert clair, vert, vert foncé, marron et marron foncé.
- Pour les rendements de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha* et *Origanum vulgare*, les extraits infusés représentent les rendements les plus élevés (8,17%, 10,64 et 14,91%), suivi par les extraits décoctés (6,12%, 6,99% et 4,55%) et enfin les extraits éthanoliques (3,20%, 4,40% et 1,28%).
- L'extrait infusé de *Mentha pulegium* représente toujours le rendement le plus élevée (11,20%), suivi par l'extrait éthanolique et enfin l'extrait décocté.
- Pour le thym serpolet, le rendement de l'extrait décocté est le plus élevée avec un pourcentage de 12,21%, puis l'extrait infusé. Le rendement le plus faible est enregistré par l'extrait éthanolique.
- Pour *Thymus vulgaris*, l'extrait éthanolique montre un taux élevé (12,35%) par rapport aux autre extraits (décocté et infusé).

3.1. Test antimicrobien

3.1.1. Test antimicrobien des antibiotiques et antifongiques commercialisés

Les résultats des tests antibiotiques et antifongiques testés sur les trois souches bactériennes et les deux souches de champignons sont résumés dans le tableau 25 et représentés par les figures 44, 45 et la planche II.

Tableau 25: Diamètres des zones d'inhibition en mm et sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis des antibiotiques et des antifongiques commercialisés

Antibiotiques	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>	
		Diamètre	Sensibilité	Diamètre	Sensibilité	Diamètre	Sensibilité
Imipenème	10	30	+	30	+	IT	++
Chloramphénicol	30	30	+	25	+	IT	++
Gentamicine	10	25	+	25	+	IT	++
Acide nalidixique	30	25	+	25	+	IT	++
Aztréonam	30	30	+	0	-	IT	++
Ceftazidime	30	27	+	0	-	IT	++
Antifongiques	Concentrations ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>			
		Diamètre	Sensibilité	Diamètre	Sensibilité		
Amphotéricine	100	0	-	IT		++	
	50	0	-	IT		++	
	20	0	-	IT		++	
	10	0	-	IT		++	
Terbinafine	100	0	-	IT		++	
	50	0	-	IT		++	
	20	0	-	IT		++	
	10	0	-	IT		++	
Fluconazole	20	0	-	35		+	
	10	0	-	25		+	

+: sensible ; -: Résistante ; ++: Hyper sensible ; IT: Inhibition totale.

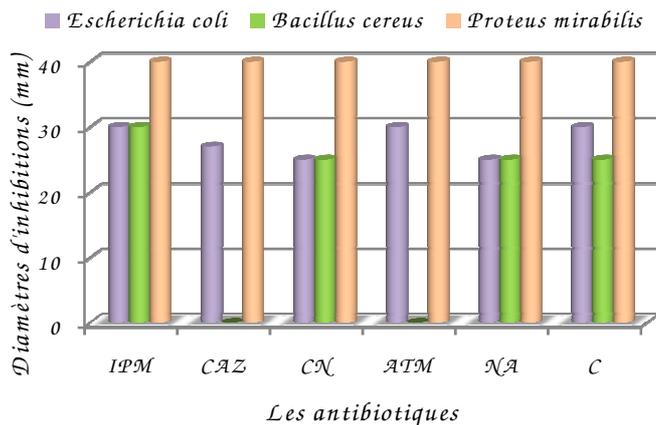


Figure 44: Représentation des diamètres de zone d'inhibition (mm) des antibiotiques commercialisés

IPM: Imipenème; **CAZ:** Ceftazidime; **CN:** Gentamicine; **ATM:** Aztréoname; **NA:** Acide nalidixique; **C:** Chloramphénicol

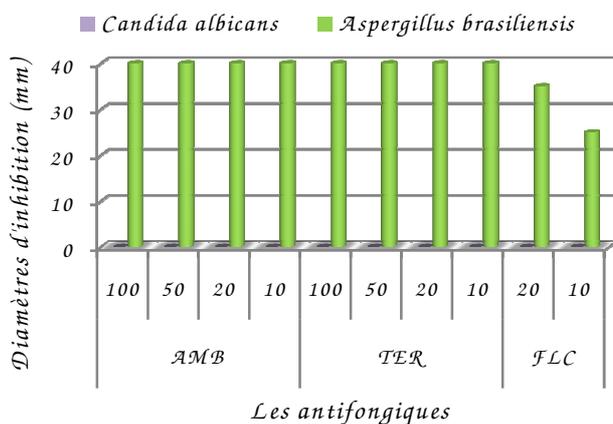
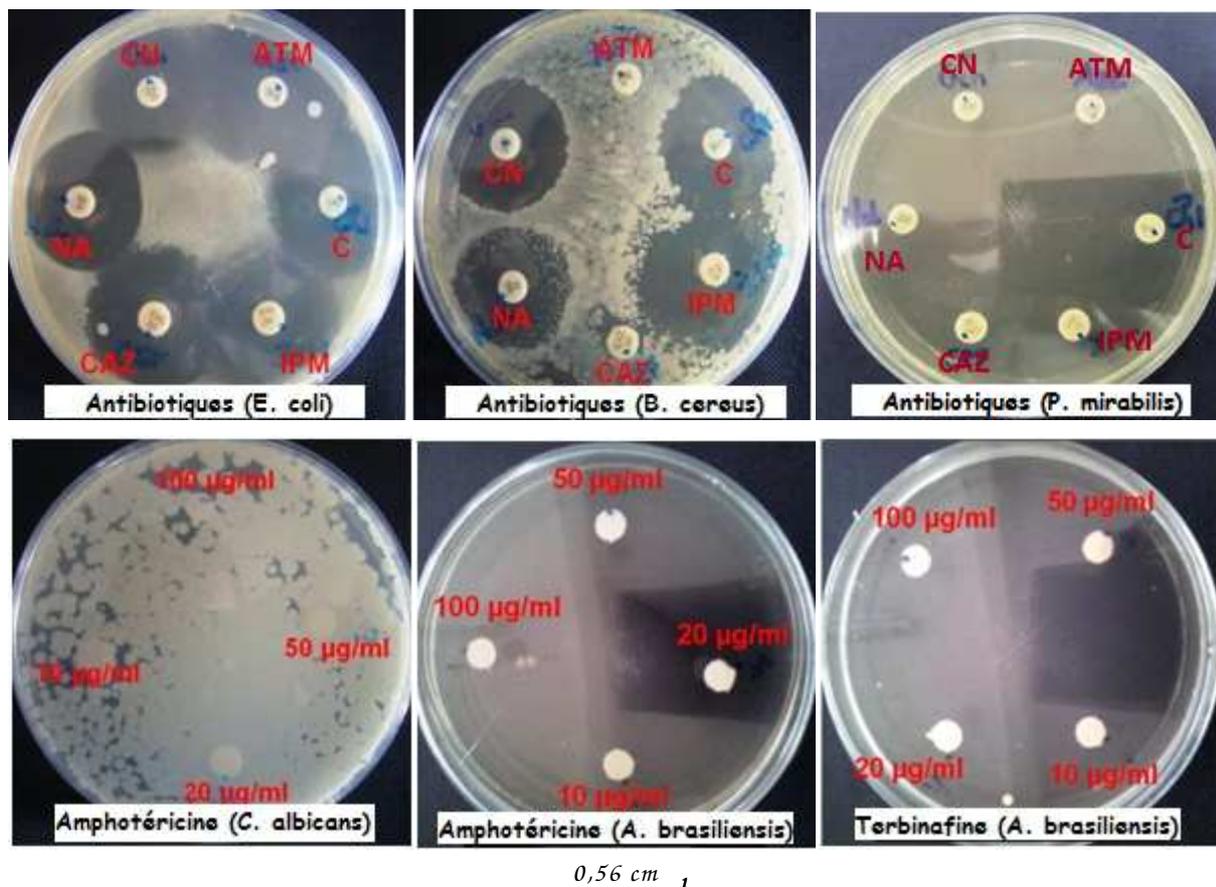


Figure 45: Représentation des diamètres de zone d'inhibition (mm) des antifongiques commercialisés

AMB: Amphotéricine; **TER:** Terbinafine; **FLC:** Fluconazole

Planche II: Activité antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques commercialisés



B. cereus: *Bacillus cereus*; *E. coli*: *Escherichia coli*; *C. albicans*: *Candida albicans*;
A. brasiliensis: *Aspergillus brasiliensis*

ATM: Aztréoname; CN: Gentamicine; NA: Acide nalidixique; CAZ: Ceftazidime; IPM: Imipenème; C: Chloramphenicol

Les résultats représentés par le tableau 25, les figures 44, 45 et la planche II montrent que:

- **L'imipenème (IPM)** est l'antibiotique le plus actif présentant des diamètres d'inhibitions de 30 mm pour *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*.
- **Le Chloramphénicol (C)** est aussi actif en enregistrant des diamètres d'inhibition de 30 et 25 mm vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*.
- **La gentamicine (CN)** et **l'acide nalidixique (NA)** présentent une activité antimicrobienne modérée, enregistrant des diamètres de 25 mm pour *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*.
- **L'aztréonam (ATM)** et **la ceftazidime (CAZ)** sont les moins actifs parmi les antibiotiques utilisés. Ils enregistrent des diamètres de 30 et 27 mm contre *Escherichia coli*. Par contre *Bacillus cereus* résiste à ces antibiotiques.

¹: L'échelle des photos des boîtes Pétri.

- *Proteus mirabilis* est très sensible (inhibition totale) à tous les antibiotiques commercialisés utilisés.
- L'amphotéricine (AMB) et la Terbinafine (TER) inhibent totalement le champignon *Aspergillus brasiliensis*.
- Le fluconazole (FLC) est moyennement actif sur *Aspergillus brasiliensis*, et enregistre des diamètres d'inhibition de 35 et 25 mm.
- *Candida albicans* résiste à tous les antifongiques utilisés.

3.1.2. Test antimicrobien des extraits

Les résultats des extraits des plantes étudiées sur les bactéries et les champignons sont illustrés sur les tableaux 26-31 et représentés par les planches III-VIII.

Tableau 26: Diamètres des zones d'inhibition (mm), sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de *Phlomis crinita*

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) et sensibilité des souches									
		Bactéries						Champignons			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
Éthanolique (EE)	1 (2,5 mg/ml)	0	-	11	+	0	-	12	+	0	-
	1/2	0	-	10,5	+	0	-	11	+	0	-
	1/4	0	-	7	±	0	-	9	±	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	9	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
Décocté (ED)	1	0	-	0	-	12	+	18,5	+	0	-
	1/2	0	-	0	-	12	+	14,5	+	0	-
	1/4	0	-	0	-	11	+	9	±	0	-
	1/6	0	-	0	-	9	±	8	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	9	±	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
Infusé (EI)	1	0	-	0	-	0	-	10	+	0	-
	1/2	0	-	0	-	0	-	10	+	0	-
	1/4	0	-	0	-	0	-	12	+	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-

Tableau 27: Diamètres des zones d'inhibition (mm) et sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de *Satureja calamintha*

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) et sensibilité des souches									
		Bactéries						Champignons			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
Éthanolique	1 (2,5 mg/ml)	12	+	0	-	0	-	10	+	0	-
	1/2	7	±	0	-	0	-	9	±	0	-
	1/4	7	±	0	-	0	-	0	-	0	-
	1/6	10	+	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	7	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	7	±	0	-
Décocté	1	0	-	9	±	0	-	13	+	0	-
	1/2	0	-	0	-	0	-	11	+	0	-
	1/4	0	-	0	-	0	-	11	±	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	9	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	7	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	9	+	0	-
Infusé	1	0	-	8	±	0	-	10	+	0	-
	1/2	0	-	8	±	0	-	9,5	±	0	-
	1/4	0	-	7	±	0	-	9,5	±	0	-
	1/6	0	-	7	±	0	-	8	±	0	-
	1/8	0	-	7	±	0	-	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	7	±	0	-

Tableau 28: Diamètres des zones d'inhibition (mm), sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de *Origanum vulgare*

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) et sensibilité des souches									
		Bactéries						Champignons			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
Éthanolique	1	13	+	0	-	12,5	+	13	+	0	-
	1/2	12	+	0	-	12	+	9	±	0	-
	1/4	10	+	0	-	11,7	+	8	±	0	-
	1/6	11,5	+	0	-	10	+	0	-	0	-
	1/8	9	±	0	-	9	±	7,5	±	0	-
	1/10	8	±	0	-	8,7	±	9	±	0	-
Décocté	1	8,5	±	0	-	13	+	10,5	+	0	-
	1/2	7	±	0	-	12	+	8	±	0	-
	1/4	7	±	0	-	12	+	8	±	0	-
	1/6	0	-	0	-	12	+	7	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	12	+	7	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	11	+	0	-	0	-
Infusé	1	8	±	0	-	16	+	13,5	+	0	-
	1/2	7	±	0	-	13,5	+	10	+	0	-
	1/4	7	±	0	-	9	±	10	+	0	-
	1/6	7	±	0	-	7	±	8	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-

Tableau 29: Diamètres des zones d'inhibition (mm), sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de *Mentha pulegium*

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) et sensibilité des souches									
		Bactéries						Champignons			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
Ethanolique	1	0	-	11	+	0	-	13	+	0	-
	1/2	0	-	11	+	0	-	10	+	0	-
	1/4	0	-	9	±	0	-	10	+	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	10	+	0	-
	1/8	0	-	8	±	0	-	8,2	±	0	-
	1/10	0	-	6	±	0	-	7,3	±	0	-
Décocté	1	8,5	±	0	-	12	+	13	+	0	-
	1/2	8,5	±	0	-	10	+	12,5	+	0	-
	1/4	7	±	0	-	9	±	14	+	0	-
	1/6	7	±	0	-	0	-	9	±	0	-
	1/8	7	±	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
Infusé	1	0	-	0	-	0	-	10	+	0	-
	1/2	0	-	0	-	0	-	9,3	±	0	-
	1/4	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-

Tableau 30: Diamètres des zones d'inhibition (mm), sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de *Thymus serpyllum*

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) et sensibilité des souches									
		Bactéries						Champignons			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
Éthanolique	1	28	+	14	+	23	+	12	+	17,5	+
	1/2	12	+	9	±	14,5	+	12	+	17	+
	1/4	12	+	7	±	11	+	12	+	15	+
	1/6	11,5	+	7	±	0	-	12	+	12	+
	1/8	0	-	9	±	0	-	12	+	11	+
	1/10	0	-	8,5	±	0	-	12	+	0	-
Décocté	1	20	+	8	±	0	-	16	+	15	+
	1/2	20	+	8	±	0	-	16	+	12	+
	1/4	16,5	+	7	±	0	-	14	+	13	+
	1/6	15,5	+	7	±	0	-	14	+	12	+
	1/8	11,5	+	7	±	0	-	12	+	13	+
	1/10	11	+	7	±	0	-	13	+	13	+
Infusé	1	0	-	10	+	0	-	20	+	0	-
	1/2	0	-	0	-	0	-	20	+	0	-
	1/4	0	-	0	-	0	-	20	+	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	20	+	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	20	+	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	20	+	0	-

Tableau 31 : Diamètres des zones d'inhibition (mm), sensibilité microbienne vis-à-vis des extraits de *Thymus vulgaris*

Extraits	Concentrations (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) et sensibilité des souches									
		Bactéries						Champignons			
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Proteus mirabilis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
Éthanolique	1	21	+	15	+	15	+	15	+	18	+
	1/2	10	+	14	+	0	-	14	+	0	-
	1/4	17	+	13	+	0	-	10	+	15,5	+
	1/6	16	+	12	+	0	-	9	±	0	-
	1/8	9	±	12	+	0	-	0	-	0	-
	1/10	8	±	11	+	0	-	10	+	0	-
Décocté	1	26	+	7,5	±	13	+	11	+	15	+
	1/2	21	+	7	±	0	-	7	±	11,5	+
	1/4	12	+	7	±	0	-	13	+	14	+
	1/6	12	+	7	±	9	±	7	±	12	+
	1/8	0	-	7	±	0	-	7	±	9	±
	1/10	0	-	0	-	0	-	0	-	9	±
Infusé	1	0	-	0	-	0	-	15,5	+	0	-
	1/2	0	-	0	-	0	-	15,5	+	0	-
	1/4	0	-	0	-	0	-	10	+	0	-
	1/6	0	-	0	-	0	-	9	±	0	-
	1/8	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-
	1/10	0	-	0	-	0	-	8	±	0	-

+ : sensible ; ± : intermédiaire ; - : résistante

Planche III: Activité antimicrobienne des extraits de *Phlomis crinita*

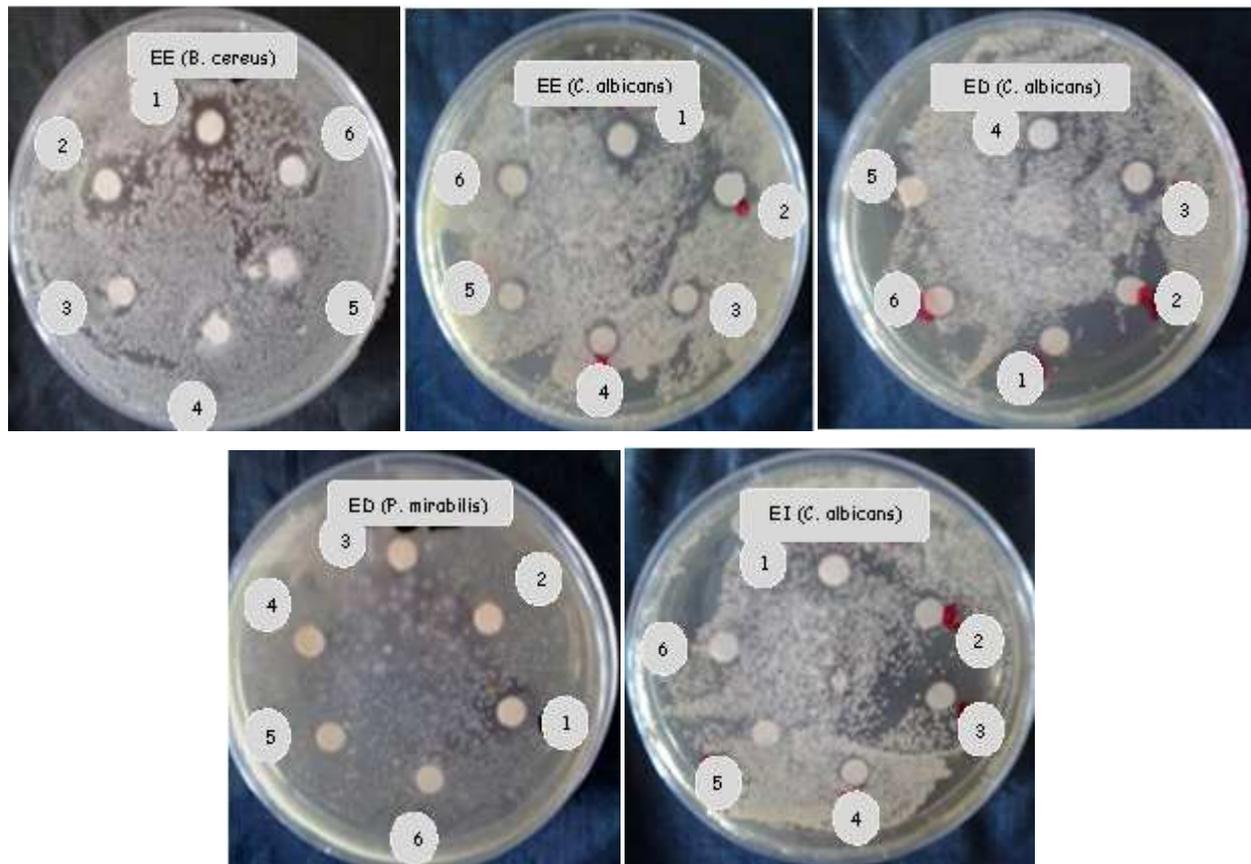


Planche IV: Activité antimicrobienne des extraits de *Satureja calamintha*

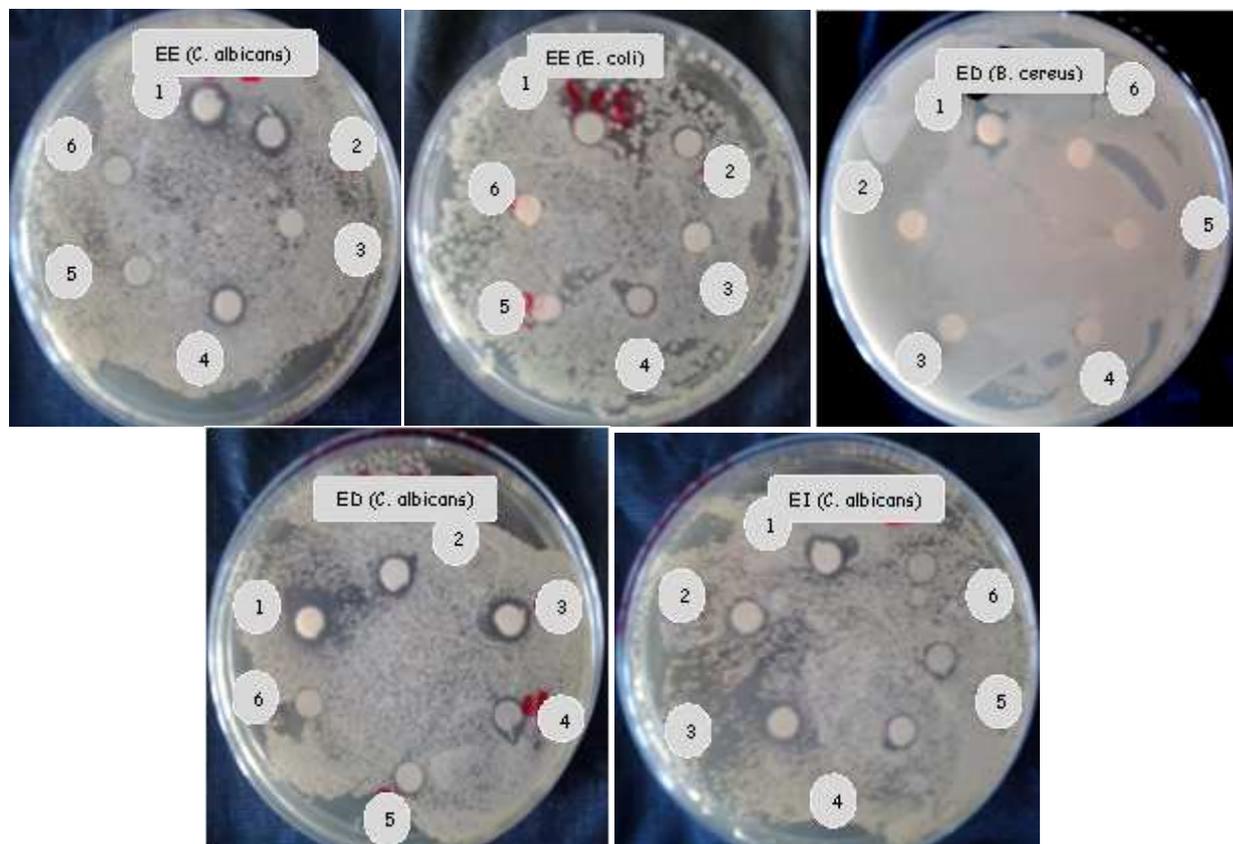


Planche V: Activité antimicrobienne des extraits de *Origanum vulgare*

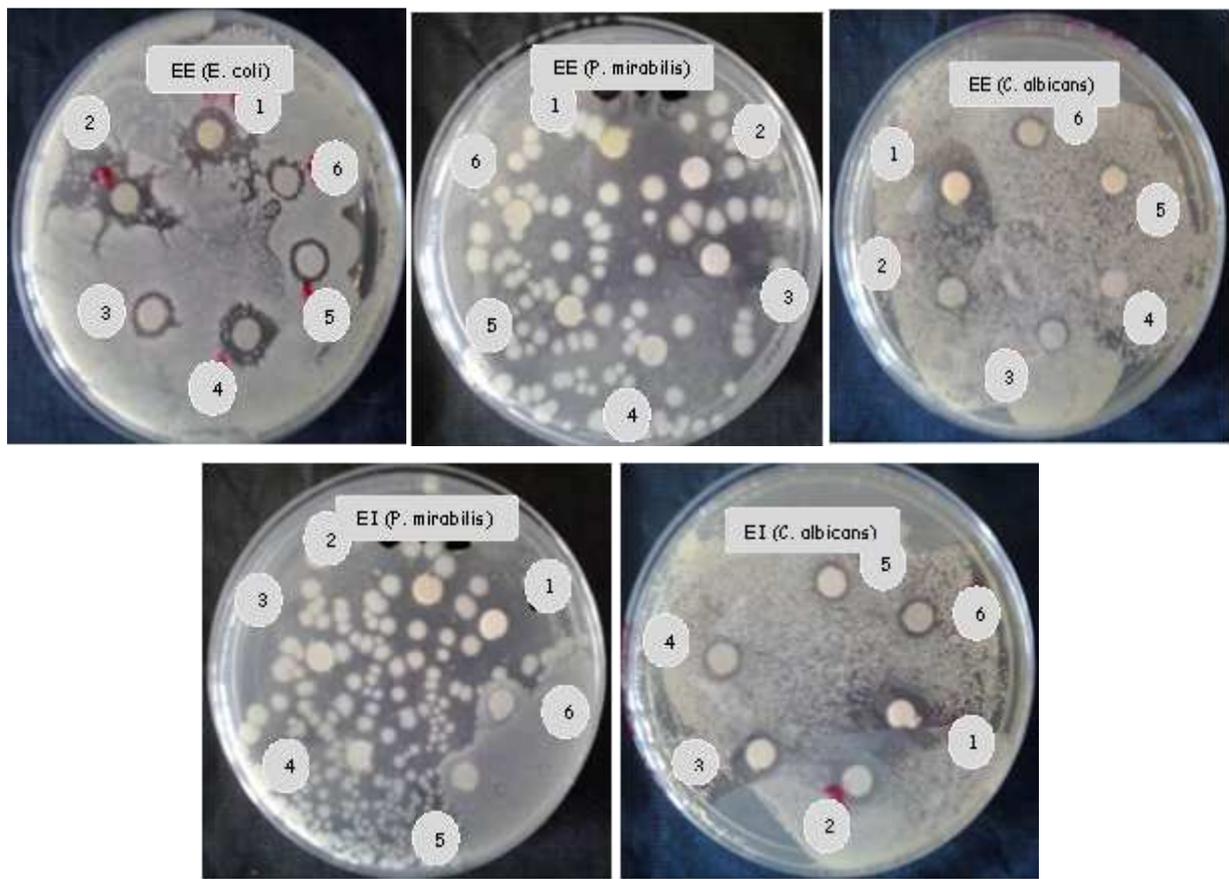


Planche VI: Activité antimicrobienne des extraits de *Mentha pulegium*

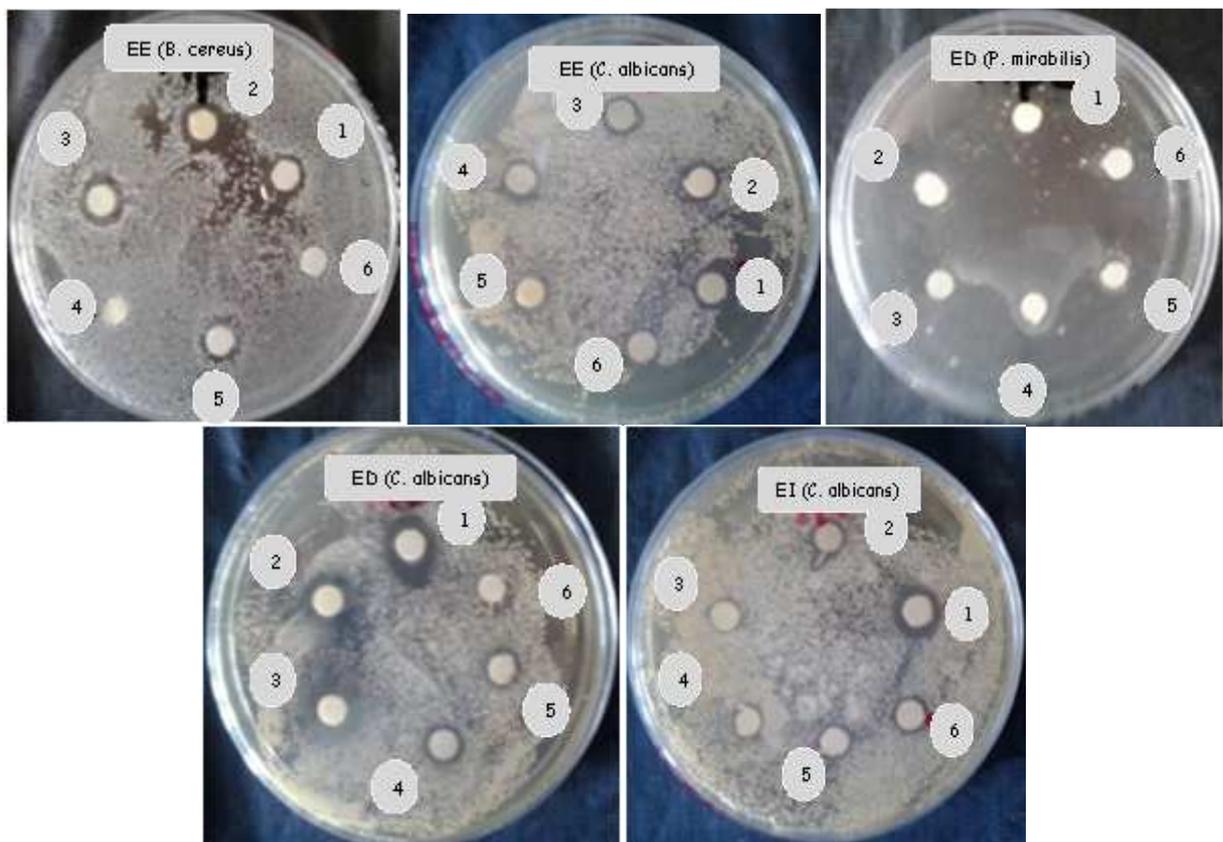


Planche VII: Activité antimicrobienne des extraits de *Thymus serpyllum*

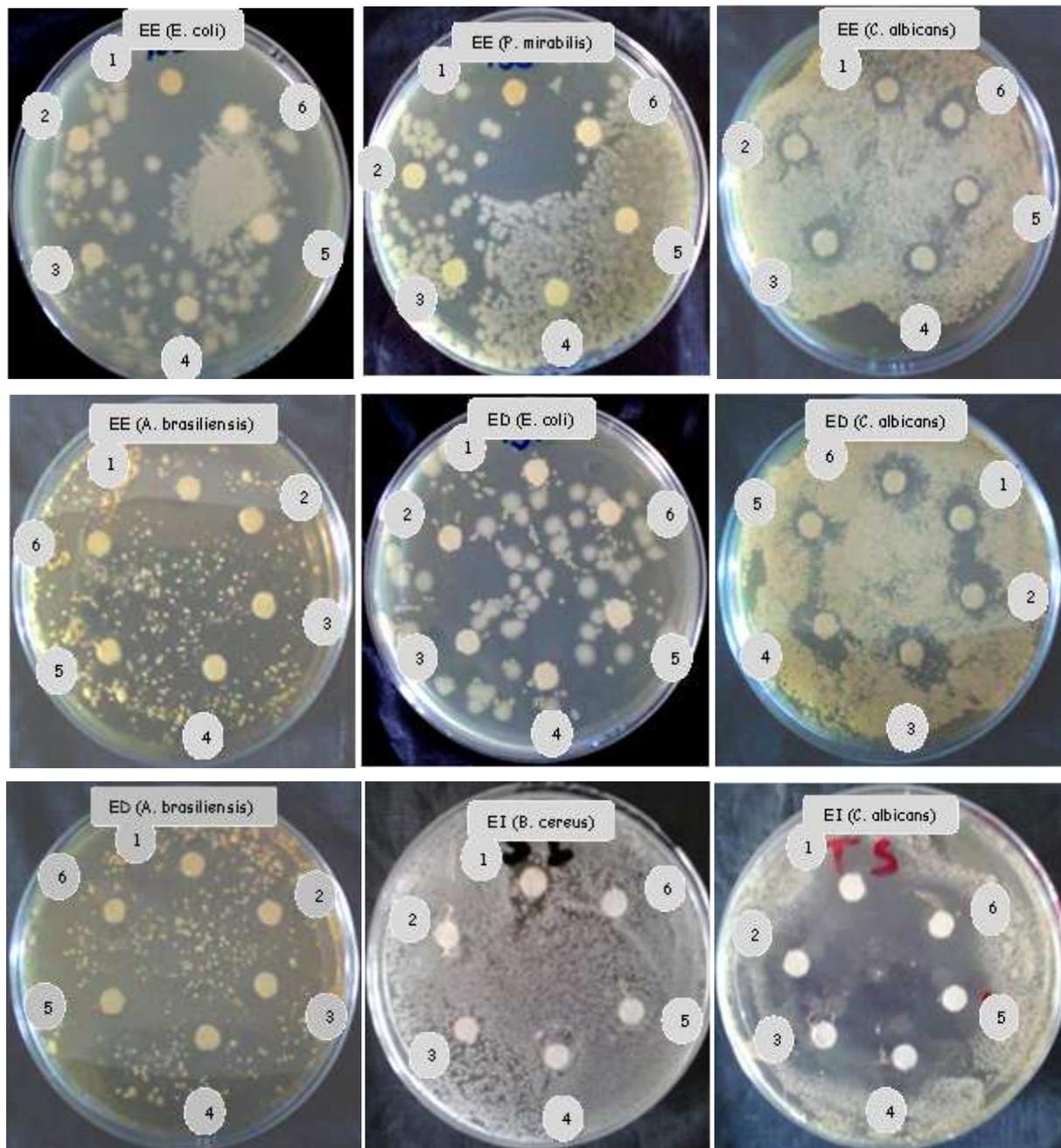
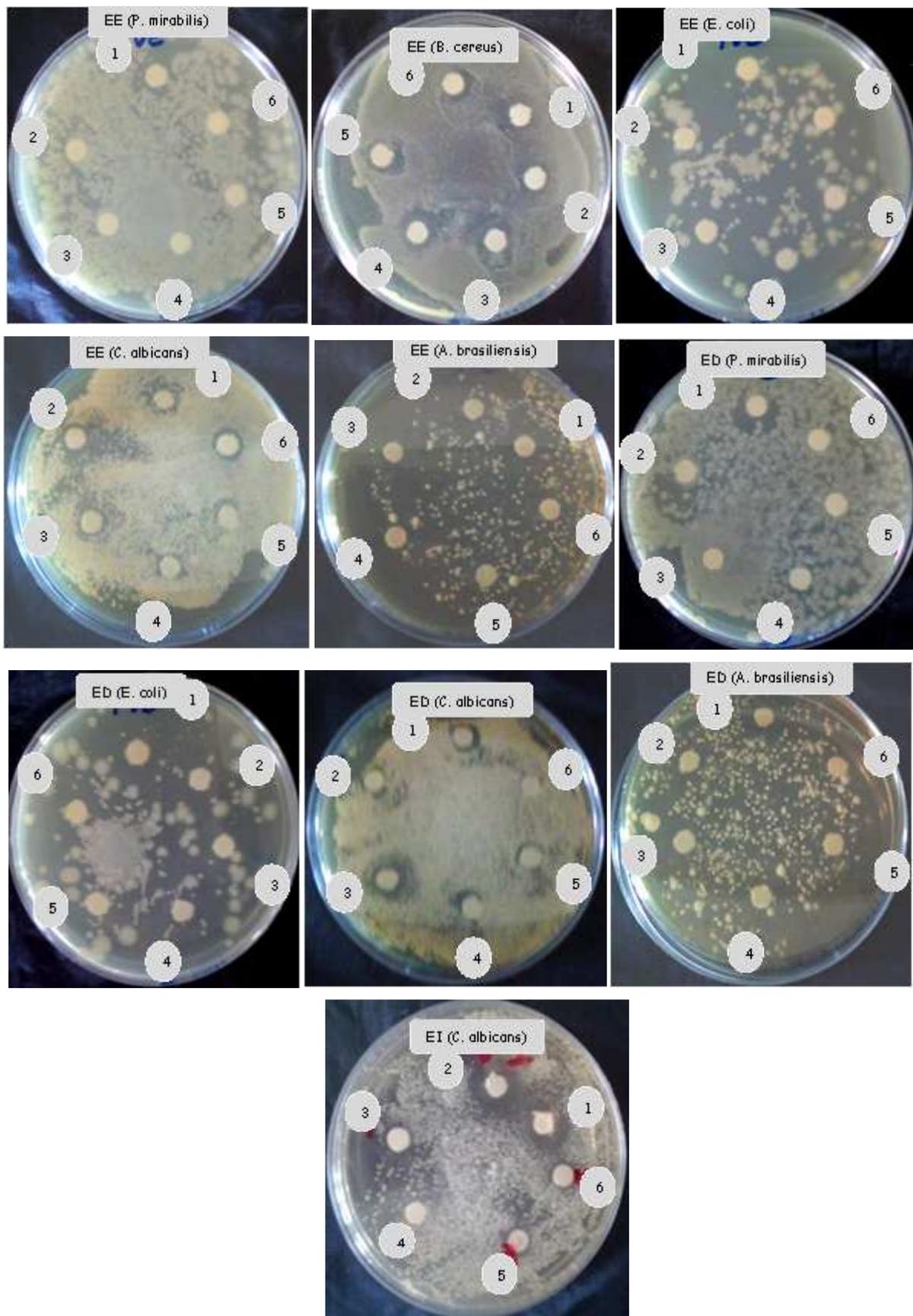


Planche VIII: Activité antimicrobienne des extraits de *Thymus vulgaris*



Les résultats résumés dans les tableaux 26-31 et représentés par les planches (de III à VIII) montrent les observations suivantes:

❖ Pour *Phlomis crinita* :

- L'extrait éthanolique montre une activité antimicrobienne sur *Bacillus cereus* et *Candida albicans* avec des diamètres d'inhibition entre 7 et 12 mm, par contre *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* et *Aspergillus brasiliensis* résistent à cet extrait.

- L'extrait décocté produit des zones d'inhibitions vis-à-vis de *Proteus mirabilis* et *Candida albicans* dont les diamètres sont compris entre 8 et 18,5 mm, contrairement à *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Aspergillus brasiliensis* qui développent une résistance.

- L'extrait infusé inhibe *Candida albicans* avec des diamètres d'inhibition de 8 à 12 mm. Cet extrait n'est pas efficace sur les autres souches testées.

❖ Pour *Satureja calamintha* :

- L'extrait éthanolique montre une activité sur *Escherichia coli* et *Candida albicans*, enregistrant des diamètres de 7 à 12 mm, mais il est totalement inactif sur *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis* et *Aspergillus brasiliensis*.

- L'extrait décocté inhibe le développement de *Candida albicans* et exprime un diamètre d'inhibition de 9 mm pour la concentration brute (2,5 mg/ml) contre *Bacillus cereus*.

- L'extrait infusé enregistre une activité moyenne sur *Bacillus cereus* et *Candida albicans* avec des diamètres de 7 à 10 mm. Cet extrait ne présente aucun effet sur les autres souches.

❖ Pour *Origanum vulgare* :

- L'extrait éthanolique présente des zones d'inhibition de diamètre allant de 7,5 à 13 mm vis-à-vis de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*.

- L'extrait décocté inhibe aussi les trois souches *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans* avec des diamètres de 6 à 13 mm.

- Les zones d'inhibition de l'extrait infusé varient entre 7 et 16 mm vis-à-vis de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*.

- *Bacillus cereus* et *Aspergillus brasiliensis* résistent à tous les extraits testés de l'origan.

❖ Pour *Mentha pulegium* :

- L'extrait éthanolique produit des diamètres d'inhibition de 6 à 13 mm vis-à-vis de *Bacillus cereus* et *Candida albicans*. Cependant, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Aspergillus brasiliensis* se révèlent résistants à toutes les concentrations.

- L'extrait décocté présente un effet antimicrobien sur *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*. En effet, cet extrait enregistre des diamètres d'inhibition compris entre 7 et 14 mm. Par contre, sur *Bacillus cereus* et *Aspergillus brasiliensis*, il est totalement inactif.

- Toutes les souches testées résistent à l'extrait infusé, sauf pour *Candida albicans* dont l'extrait enregistre des zones d'inhibition de 8 à 10 mm de diamètre.

- ❖ Pour *Thymus serpyllum* :

- L'extrait éthanolique présente une bonne activité antimicrobienne contre toutes les souches étudiées. Il enregistre des diamètres d'inhibition allant de 7 à 28 mm.

- L'extrait décocté inhibe fortement la croissance de *Escherichia coli*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*, enregistrant des diamètres d'inhibition entre 11 et 20 mm. Sur *Bacillus cereus*, il est moyennement actif enregistrant des auréoles de 7 et 8 mm de diamètre. Cependant, cet extrait est inactif contre *Proteus mirabilis*.

- L'extrait infusé présente des zones d'inhibition de 20 mm (une synergie entre les 6 concentrations) contre *Candida albicans*, tandis qu'une seule zone de 10 mm est observée autour du disque à 2,5 mg/ml de l'extrait vis-à-vis de *Bacillus cereus*. *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Aspergillus brasiliensis* résistent à cet extrait.

- ❖ Pour *Thymus vulgaris* :

- L'extrait éthanolique présente une activité importante sur *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*, remarquant des zones d'inhibition dont les diamètres sont compris entre 8 et 21 mm. Une seule zone d'inhibition de 15 mm est observée autour du disque de 2,5 mg/ml vis-à-vis de *Proteus mirabilis*.

- L'extrait décocté est plus actif sur *Escherichia coli* et *Aspergillus brasiliensis* (des diamètres d'inhibition de 9 à 26 mm) que sur les autres souches, dont les diamètres allant de 7 à 13 mm.

- L'extrait infusé est inactif sur les souches testées sauf sur *Candida albicans* où il produit des diamètres des zones d'inhibition de 8 à 15,5 mm.

3.1.3. Pourcentages de l'effet antimicrobien des extraits et la sensibilité des souches

Les extraits éthanoliques, décoctés et infusés des six espèces étudiées sont classés selon leurs effets antibactérien et antifongique, et les souches testées selon leur sensibilité. Ces résultats sont résumés dans les tableaux 32-37 et les figures 46-51.

Tableau 32: Classement des extraits de *Phlomis crinita* selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités

Type du test et de souches	Extraits	Sensibilité							
		Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Extrait éthanolique	15	83,33	1	5,56	2	11,11	18	100
	Extrait décocté	13	72,22	2	11,11	3	16,67	18	100
	Extrait infusé	18	100	0	0	0	0	18	100
Test antifongique	Extrait éthanolique	6	50	4	33,33	2	16,67	12	100
	Extrait décocté	6	50	4	33,33	2	16,67	12	100
	Extrait infusé	8	66,67	1	8,33	3	25	12	100
	Souches microbiennes								
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	18	100	0	0	0	0	18	100
	<i>Bacillus cereus</i>	15	83,33	1	5,56	2	11,11	18	100
	<i>Proteus mirabilis</i>	13	72,22	2	11,11	3	16,67	18	100
Champignons	<i>Candida albicans</i>	2	11,11	9	50	7	38,89	18	100
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	18	100	0	0	0	0	18	100

Tableau 33: Classement des extraits de *Satureja calamintha* selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités

Type du test et de souches	Extraits	Sensibilité							
		Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Extrait éthanolique	14	77,78	2	11,11	2	11,11	18	100
	Extrait décocté	17	94,44	1	5,56	0	0	18	100
	Extrait infusé	13	72,22	5	27,78	0	0	18	100
Test antifongique	Extrait éthanolique	7	58,33	4	33,33	1	8,33	12	100
	Extrait décocté	6	50	3	25	3	25	12	100
	Extrait infusé	6	50	5	41,67	1	8,33	12	100
	Souches microbiennes								
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	14	77,78	2	11,11	2	11,11	18	100
	<i>Bacillus cereus</i>	12	66,67	6	33,33	0	0	18	100
	<i>Proteus mirabilis</i>	18	100	0	0	0	0	18	100
Champignons	<i>Candida albicans</i>	1	5,55	12	66,67	5	27,78	18	100
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	18	100	0	0	0	0	18	100

Tableau 34: Classement des extraits de *Origanum vulgare* selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités

Type du test et de souches	Extraits	Sensibilité							
		Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Extrait éthanolique	6	33,33	4	22,22	8	44,44	18	100
	Extrait décocté	9	50	3	16,67	6	33,33	18	100
	Extrait infusé	10	55,56	6	33,33	2	11,11	18	100
Test antifongique	Extrait éthanolique	7	58,33	4	33,33	1	8,33	12	100
	Extrait décocté	7	58,33	4	33,33	1	8,33	12	100
	Extrait infusé	6	50	3	25	3	25	12	100
	Souches microbiennes								
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	5	27,78	9	50	4	22,22	18	100
	<i>Bacillus cereus</i>	18	100	0	0	0	0	18	100
	<i>Proteus mirabilis</i>	2	11,11	4	22,22	12	66,67	18	100
Champignons	<i>Candida albicans</i>	2	11,11	11	61,11	5	27,78	18	100
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	18	100	0	0	0	0	18	100

Tableau 35: Classement des extraits de *Mentha pulegium* selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités

Type du test et de souches	Extraits	Sensibilité							
		Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Extrait éthanolique	13	72,22	3	16,67	2	11,11	18	100
	Extrait décocté	10	55,56	6	33,33	2	11,11	18	100
	Extrait infusé	18	100	0	0	0	0	18	100
Test antifongique	Extrait éthanolique	6	50	2	16,67	4	33,33	12	100
	Extrait décocté	6	50	3	25	3	25	12	100
	Extrait infusé	6	50	4	33,33	2	16,67	12	100
	Souches microbiennes								
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	13	72,22	5	27,78	0	0	18	100
	<i>Bacillus cereus</i>	13	72,22	3	16,67	2	11,11	18	100
	<i>Proteus mirabilis</i>	15	83,33	1	5,56	2	11,11	18	100
Champignons	<i>Candida albicans</i>	0	0	10	55,56	8	44,44	18	100
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	18	100	0	0	0	0	18	100

Tableau 36: Classement des extraits *Thymus serpyllum* selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités

Type du test et de souches	Extraits	Sensibilité							
		Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Extrait éthanolique	5	27,78	5	27,78	8	44,44	18	100
	Extrait décocté	6	33,33	6	33,33	6	33,33	18	100
	Extrait infusé	17	94,44	0	0	1	5,56	18	100
Test antifongique	Extrait éthanolique	1	8,33	0	0	11	91,67	12	100
	Extrait décocté	0	0	0	0	12	100	12	100
	Extrait infusé	6	50	0	0	6	50	12	100
	Souches microbiennes								
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	8	44,44	0	0	10	55,56	18	100
	<i>Bacillus cereus</i>	5	27,78	11	61,11	2	11,11	18	100
	<i>Proteus mirabilis</i>	15	83,33	0	0	3	16,67	18	100
Champignons	<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	18	100	18	100
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	7	38,89	0	0	11	61,11	18	100

Tableau 37: Classement des extraits de *Thymus vulgaris* selon leurs effets antibactérien et antifongique et des souches microbiennes selon leurs sensibilités

Type du test et de souches	Extraits	Sensibilité							
		Résistante (-)		Intermédiaire (±)		Sensible (+)		Totaux	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Test antibactérien	Extrait éthanolique	5	27,78	2	11,11	11	61,11	18	100
	Extrait décocté	7	38,89	6	33,33	5	27,78	18	100
	Extrait infusé	18	100	0	0	0	0	18	100
Test antifongique	Extrait éthanolique	5	41,67	1	8,33	6	50	12	100
	Extrait décocté	1	8,33	5	41,67	6	50	12	100
	Extrait infusé	6	50	3	25	3	25	12	100
	Souches microbiennes								
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	8	44,44	2	11,11	8	44,44	18	100
	<i>Bacillus cereus</i>	7	38,89	5	27,78	6	33,33	18	100
	<i>Proteus mirabilis</i>	15	83,33	1	5,56	2	11,11	18	100
Champignons	<i>Candida albicans</i>	2	11,11	7	38,89	9	50	18	100
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	10	55,56	2	11,11	6	33,33	18	100

N : nombre de tests, % : Pourcentage

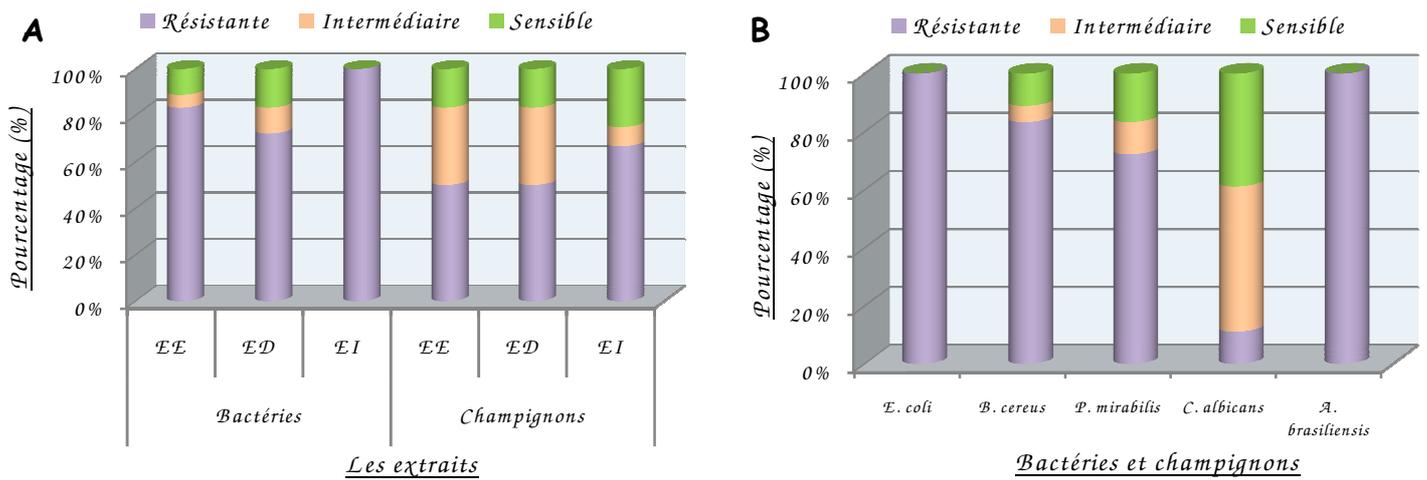


Figure 46: Classification des extraits de *Phlomis crinita* selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)

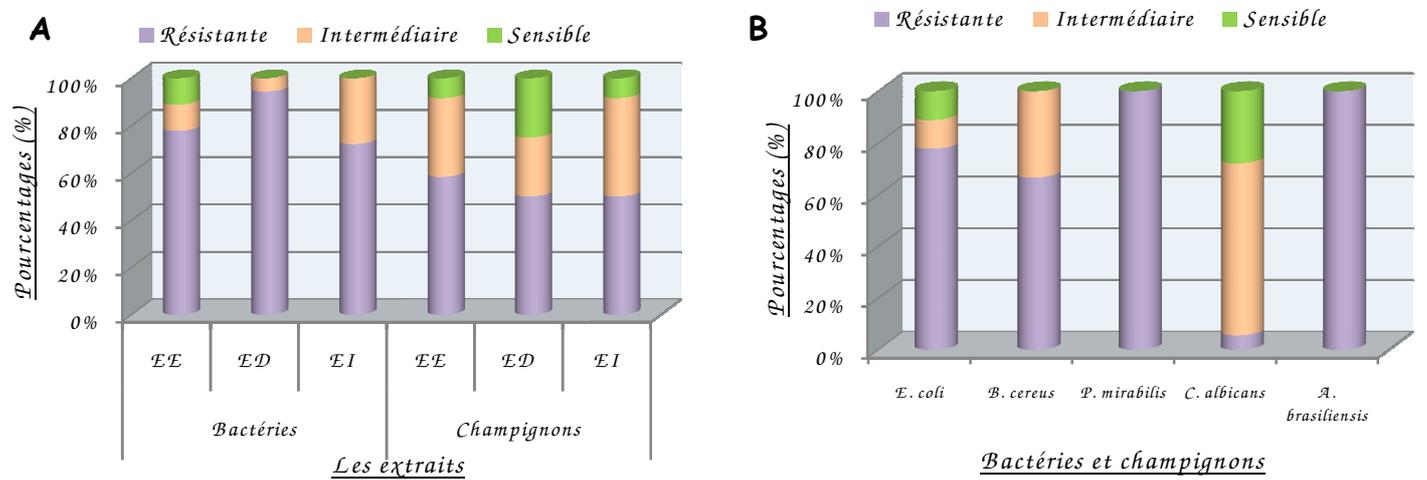


Figure 47: Classification des extraits de *Satureja calamintha* selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)

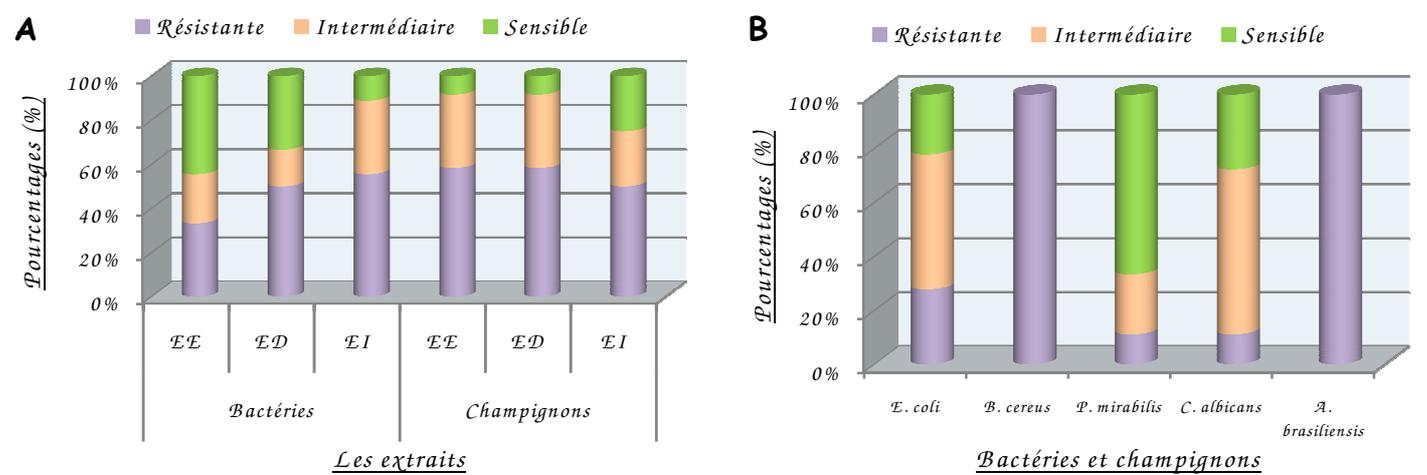


Figure 48: Classification des extraits de *Origanum vulgare* selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)

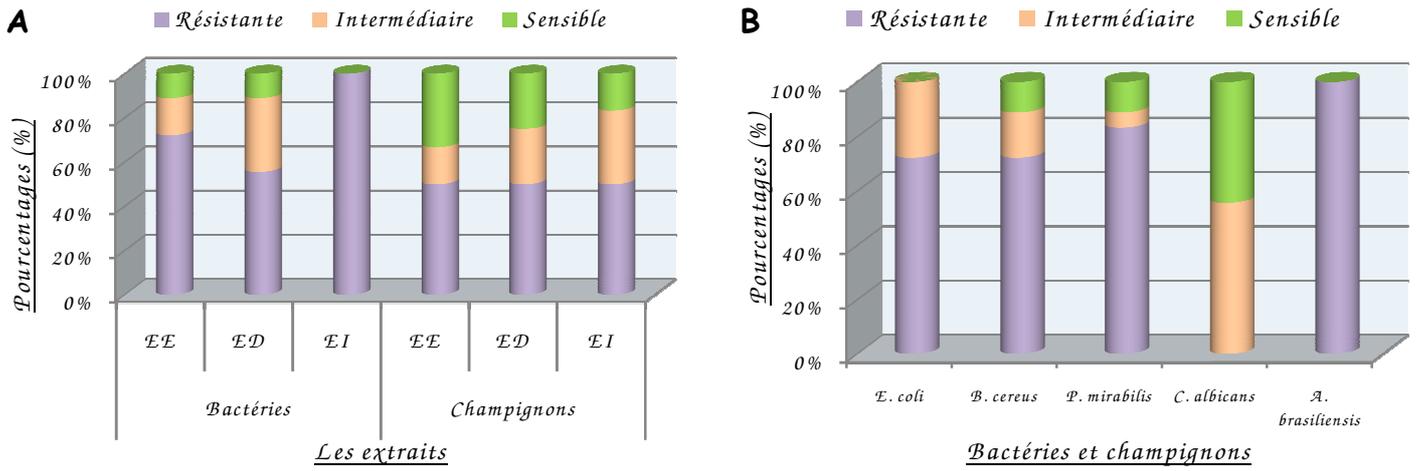


Figure 49: Classification des extraits de *Mentha pulegium* selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)

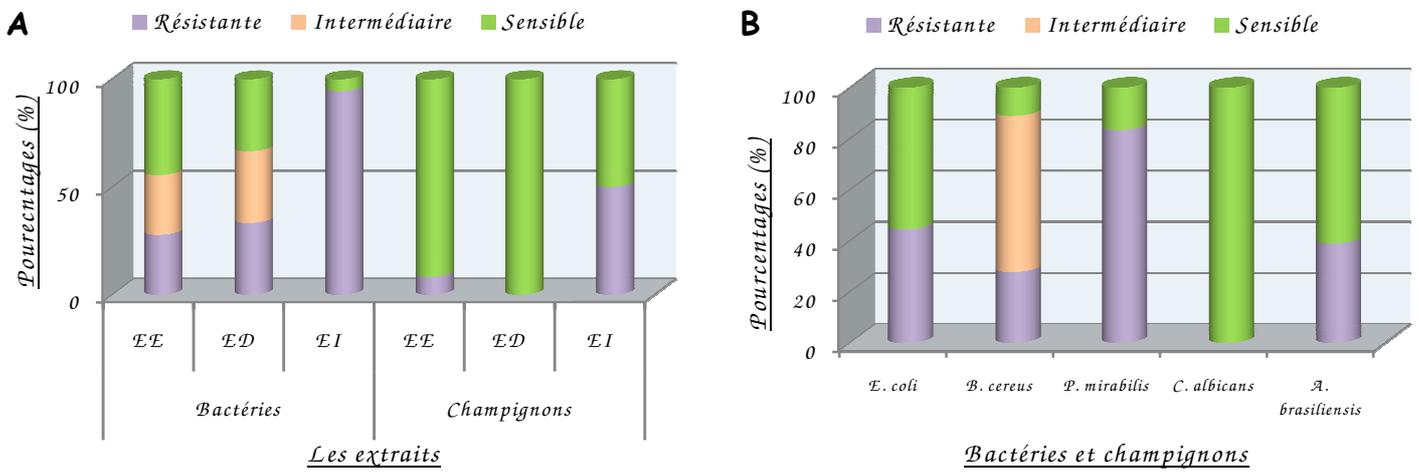


Figure 50: Classification des extraits de *Thymus serpyllum* selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)

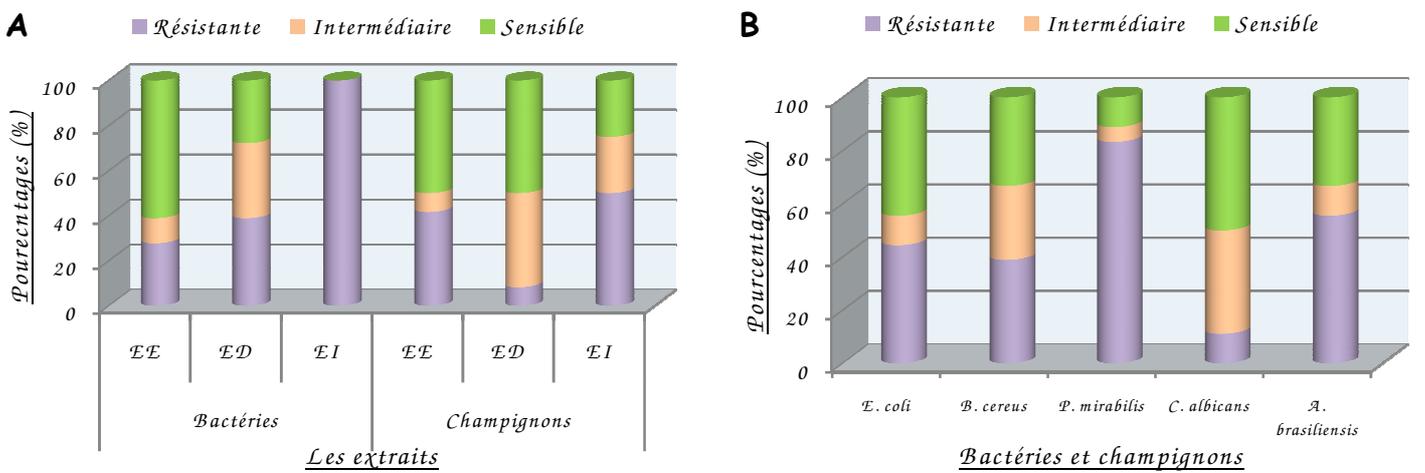


Figure 51: Classification des extraits de *Thymus vulgaris* selon leur effet antimicrobien (A) et la sensibilité des souches vis-à-vis de ces extraits (B)

La catégorisation des différents extraits des six espèces selon leur effet antimicrobien fait ressortir les remarques suivantes :

- Pour *Phlomis crinita*, l'extrait décocté est le plus actif sur les bactéries avec un pourcentage de 16,67 % des tests sensibles, suivi de l'extrait éthanolique avec 11,11 %. Par contre l'extrait infusé est inactif vis-à-vis des souches bactériennes testées. En ce qui concerne les tests fongiques, l'extrait infusé marque un taux plus élevé (25 %) par rapport des autres extraits (16,67 % pour chacun).

- L'extrait éthanolique de *Satureja calamintha* enregistre un taux de 11,11 % des tests antibactériens sensibles. En effet, les tests des extraits décocté et infusé sont intermédiaires ou résistants. Pour les tests des champignons, l'extrait décocté est le plus actif avec un pourcentage de sensibilité de 25%.

- Pour *Origanum vulgare*, le pourcentage le plus élevé des tests contre les souches bactériennes a enregistré chez l'extrait éthanolique (44,44 %) suivi respectivement par l'extrait décocté (33,33 %) et l'extrait infusé (11,11 %). Contre les souches fongiques, l'extrait infusé est le plus actif avec un pourcentage de 25 %.

- Les extraits éthanolique et décocté de *Mentha pulegium* sont les plus actifs vis-à-vis des souches bactériennes testées avec un pourcentage de 11,11%. Pour l'effet antifongique, l'extrait éthanolique marque un taux élevé de 33,33%.

- Chez *Thymus serpyllum*, l'extrait éthanolique est l'extrait le plus actif marquant un taux de 44,44% de tests antibactériens sensibles. Pour l'activité antifongique, les extraits décocté et éthanolique enregistrent des taux très élevés respectifs de 100 % et 91,67 %. L'extrait infusé décline un pourcentage de 50 % de sensibilité.

- Pour le pouvoir antibactérien de *Thymus vulgaris*, l'extrait éthanolique marque le taux le plus élevé des tests sensibles (61,67 %). Les extraits éthanolique et décocté sont les plus actifs contre les souches fongiques testées avec un pourcentage de 50%.

En ce qui concerne la classification des souches microbiennes en fonction de leurs sensibilités:

- Pour les extraits de *Phlomis crinita*, *Proteus mirabilis* est la souche bactérienne la plus sensible avec un pourcentage de 16,67 % suivi par *Bacillus cereus* (11,11 %). Pour les souches fongiques, *Candida albicans* est celle qui marque les taux élevés de sensibilité (38,89 %). Par contre, *Escherichia coli* et *Aspergillus brasiliensis* sont totalement résistants à l'ensemble des extraits de cette espèce.

- Chez les extraits de *Satureja calamintha*, *Escherichia coli* est la souche qui enregistre le taux élevé de sensibilité (11,11 %), *Bacillus cereus* est intermédiaire ou résistante et *Proteus mirabilis* est totalement résistants aux

extraits. Pour les champignons, *Aspergillus brasiliensis* est toujours résistant et *Candida albicans* enregistre un taux de sensibilité de 27,78 %.

- *Proteus mirabilis* est la souche bactérienne la plus sensible vis-à-vis des extraits de *Origanum vulgare* avec un pourcentage de 66,67 %, suivi par *Escherichia coli* (22,22 %). Par contre, *Bacillus cereus* est résistante. En ce qui concerne les souches fongiques, *Candida albicans* marque un taux de sensibilité de 27,78 % et *Aspergillus brasiliensis* est 100 % résistant.

- Pour les extraits de *Mentha pulegium*, les bactéries *Bacillus cereus* et *Proteus mirabilis* enregistrent un pourcentage de sensibilité de 11,11 % et le champignon *Candida albicans* marque un taux de 44,44 %. Par contre, *Escherichia coli* n'est pas sensible aux extraits de la menthe pouliot, elle est soit intermédiaire ou bien résistante et *Aspergillus brasiliensis*, à son tour, est une souche fongique résistante.

- Chez les extraits de *Thymus serpyllum*, *Escherichia coli* marque un taux de sensibilité plus élevé (55,56 %), suivi par *Proteus mirabilis* et *Bacillus cereus* avec des pourcentages respectivement de 16,67 % et 11,11 %. *Candida albicans* est totalement sensible aux extraits et *Aspergillus brasiliensis* est sensible avec un pourcentage de 61,11 % de tests.

- Pour *Thymus vulgaris*, *Escherichia coli* enregistre le taux de sensibilité le plus élevé de 44,44 %, suivi par *Bacillus cereus* (33,33 %) et *Proteus mirabilis* (11,11 %). En ce qui concerne les souches fongiques, *Candida albicans* est la plus sensible avec un pourcentage de 50 % suivi par *Aspergillus brasiliensis* par un taux de 33,33 %.

3.1.4. Analyse statistique (ACP)

Les données traitées par l'analyse en composantes principales (ACP) sont le croisement entre les pourcentages de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits affiliées respectivement à chaque taxon étudié.

- **Analyse du plan factoriel des individus (les espèces étudiées)**

Au niveau du plan factoriel (F1×F2), 64,46 % de l'information est expliqué par l'axe F1 et 24,08 % donnée par l'axe F2.

La contribution des différents individus (tableau 38) et la ségrégation de l'ACP sur le plan factoriel (F1×F2) (Figure 52) ont permis de mettre en évidence deux groupes principaux:

- **Le groupe 1 (Gr1)** est représenté par *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris*. Ce groupe réunit les espèces végétales qui ont un pouvoir antimicrobien élevé.

- **Le groupe 2 (Gr2)** regroupe *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha* et *Mentha pulegium*, espèces qui ont des activités antimicrobiennes plus faibles.

Tableau 38: Contribution des individus sur les axes 1 et 2

Espèces (Individus)	Axe 1	Axe 2
<i>Phlomis crinita</i>	1,11761	-0,170494
<i>Satureja calamintha</i>	2,24691	-0,503897
<i>Origanum vulgare</i>	-0,41892	2,395251
<i>Mentha pulegium</i>	1,26153	-0,599047
<i>Thymus serpyllum</i>	-3,20413	-0,888960
<i>Thymus vulgaris</i>	-1,00299	-0,232853

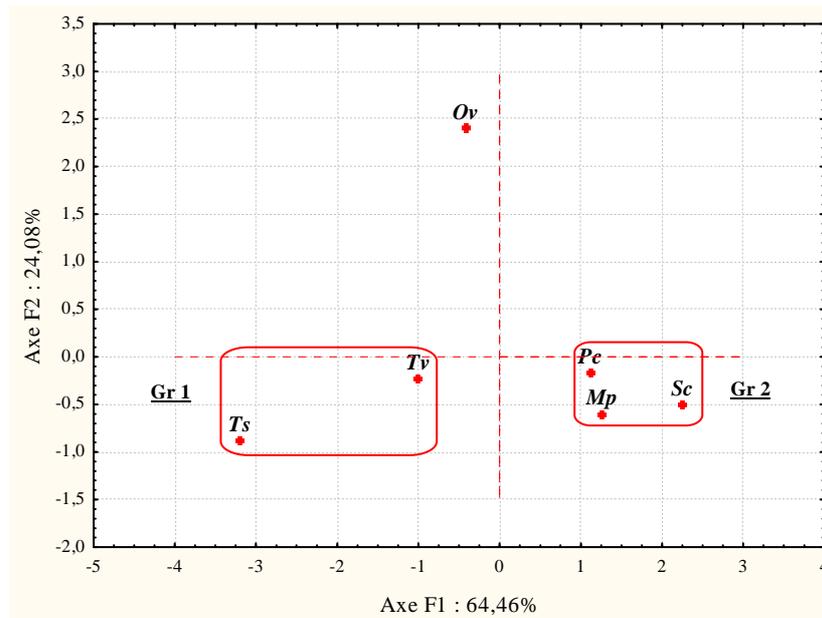


Figure 52: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F2)

Gr: Groupe, **Pc:** *Phlomis crinita*, **Sc:** *Satureja calamintha*, **Ov:** *Origanum vulgare*, **Mp:** *Mentha pulegium*,
Ts: *Thymus serpyllum*, **Tv:** *Thymus vulgaris*.

3.2. Activité antioxydante

3.2.1. Pourcentages de réduction de radicale libre DPPH

Les figures 53-59 explicitent les résultats du pouvoir antioxydant des extraits de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* et de l'acide ascorbique par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

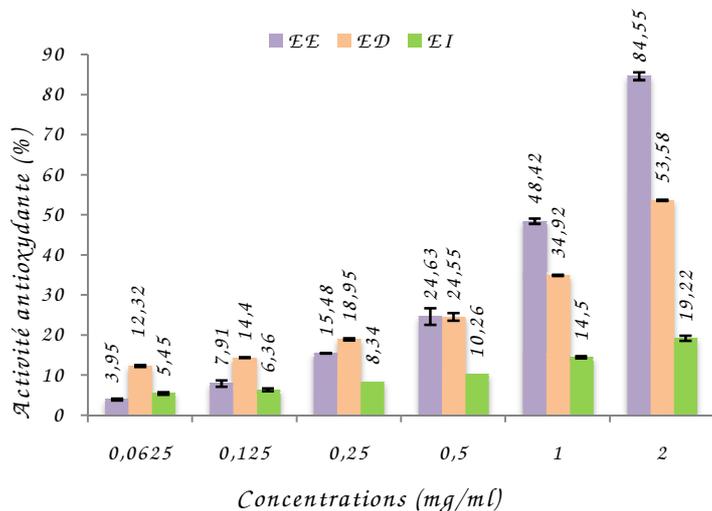


Figure 53: Activité antioxydante des extraits de *Phlomis crinita*

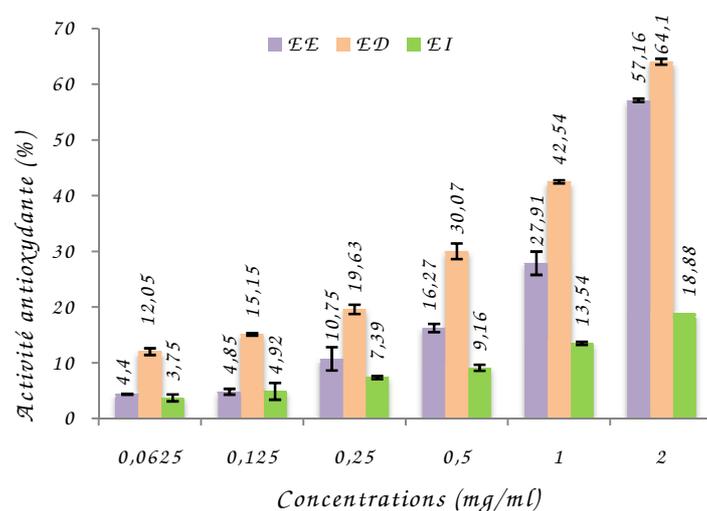


Figure 54: Activité antioxydante des extraits de *Satureja calamintha*

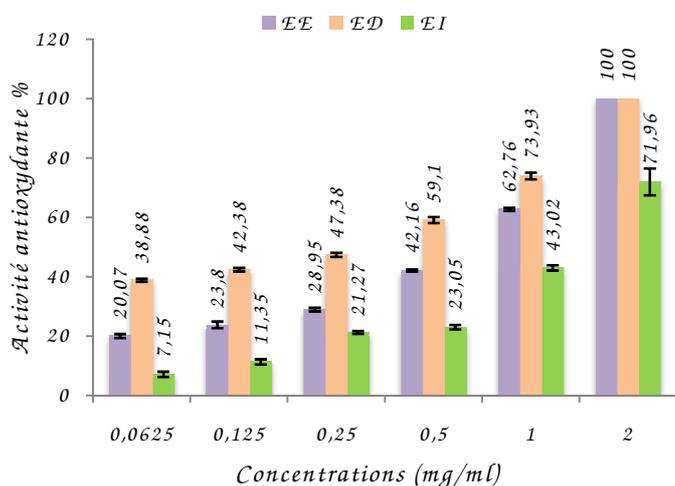


Figure 55: Activité antioxydante des extraits de *Origanum vulgare*

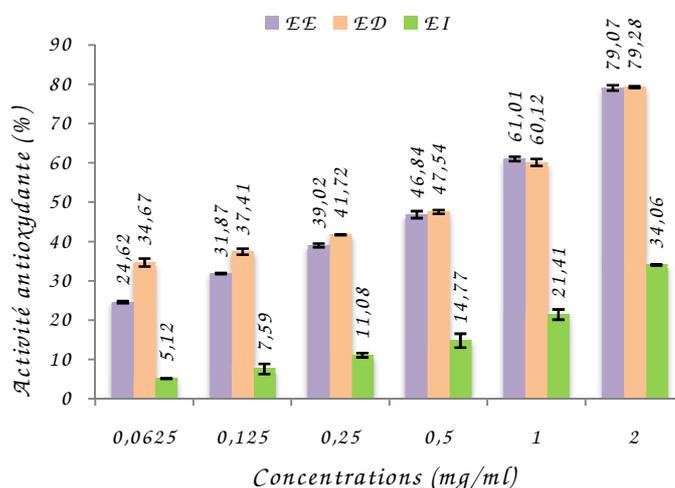


Figure 56: Activité antioxydante des extraits de *Mentha pulegium*

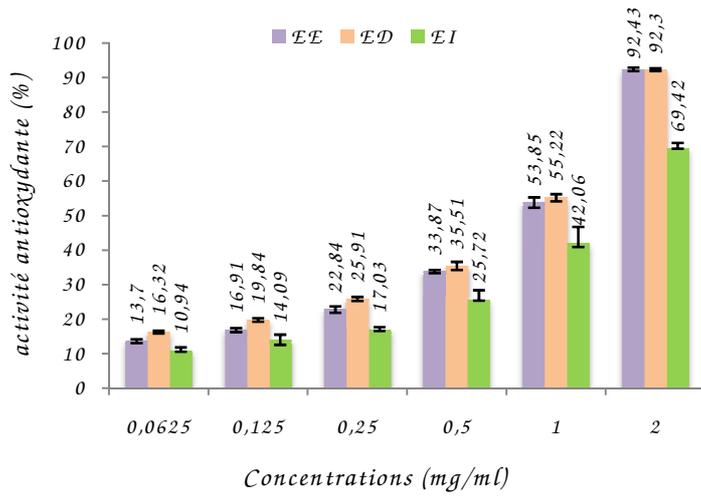


Figure 57: Activité antioxydante des extraits de *Thymus serpyllum*

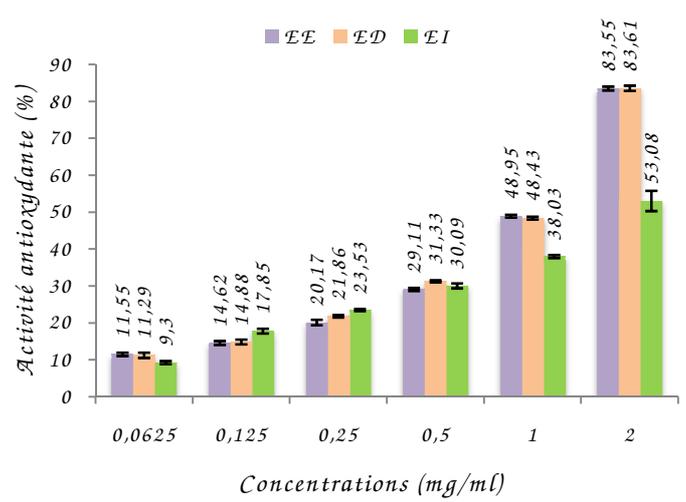


Figure 58: Activité antioxydante des extraits de *Thymus serpyllum*

EE: Extrait éthanolique; ED: Extrait décocté; EI: Extrait infusé.

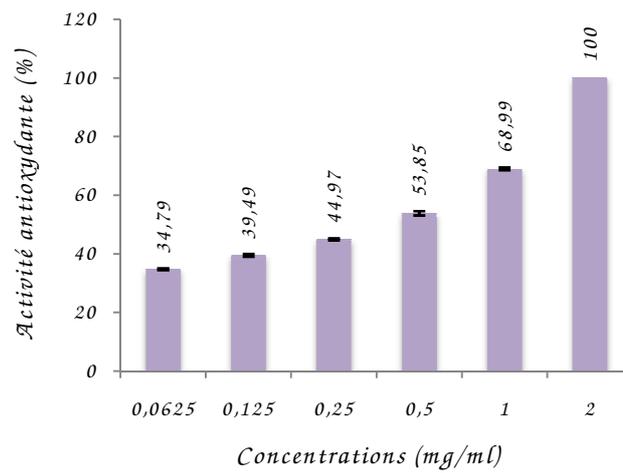


Figure 59: Activité antioxydante de l'acide ascorbique

3.2.2. Concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀) et les puissances antiradicalaires (ARP)

Les résultats présentés dans le tableau 39 correspondent aux IC₅₀ et les ARP des différents extraits des espèces étudiées.

Tableau 39: Valeurs des IC₅₀ et les pouvoirs antiradicalaires des extraits

Espèces	Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
<i>Phlomis crinita</i>	Éthanolique	1,12 ± 0,001	0,89 ± 0,001
	Décocté	1,78 ± 0,001	0,56 ± 0,001
	Infuse	>2	<0,5
<i>Satureja calamintha</i>	Éthanolique	1,76 ± 0,012	0,57 ± 0,005
	Décocté	1,38 ± 0,015	0,72 ± 0,01
	Infuse	>2	<0,5
<i>Origanum vulgare</i>	Éthanolique	0,74 ± 0,005	1,34 ± 0,01
	Décocté	0,32 ± 0,025	3,09 ± 0,235
	Infuse	1,29 ± 0,057	0,78 ± 0,035
<i>Mentha pulegium</i>	Éthanolique	0,76 ± 0,015	1,31 ± 0,025
	Décocté	0,65 ± 0,028	1,54 ± 0,065
	Infuse	>2	<0,5
<i>Thymus serpyllum</i>	Éthanolique	0,93 ± 0,02	1,07 ± 0,025
	Décocté	0,89 ± 0,018	1,12 ± 0,02
	Infuse	1,32 ± 0,085	0,76 ± 0,045
<i>Thymus vulgaris</i>	Éthanolique	1,07 ± 0,013	0,93 ± 0,012
	Décocté	1,06 ± 0,014	0,94 ± 0,013
	Infuse	1,72 ± 0,10	0,58 ± 0,035
<i>Acide ascorbique</i>		0,43 ± 0,013	2,29 ± 0,07

L'activité antiradicalaire des différents extraits et de l'acide ascorbique est exprimée par l'IC₅₀. Une valeur faible d'IC₅₀ implique une forte activité antioxydante. Ces résultats sont consignés dans la figure 60.

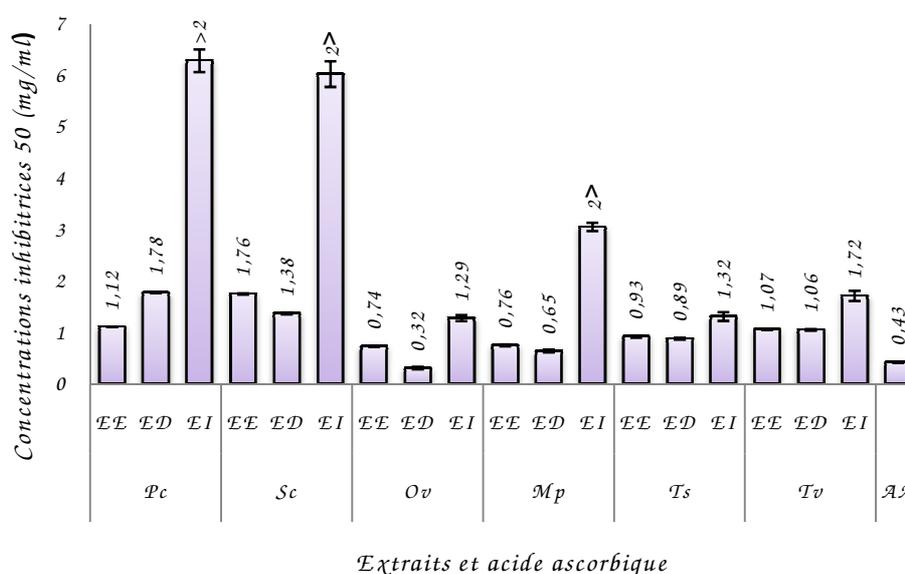


Figure 60: Les IC₅₀ de l'acide ascorbique et des extraits des six plantes étudiées

Les résultats mentionnés ci-dessus montrent que les IC_{50} varient en fonction du type d'extrait et de l'espèce. En effet, les plus faibles IC_{50} sont notées chez les extraits décoctés (les extraits de *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* sont les mieux représentés avec des IC_{50} respectives de $0,32 \pm 0,025$ mg/ml et de $0,65 \pm 0,028$ mg/ml tandis que les plus fortes caractérisent les extraits de *Phlomis crinita* ($1,78 \pm 0,001$ mg/ml) et *Satureja calamintha* ($1,38 \pm 0,015$ mg/ml)).

Les extraits éthanoliques enregistrent à leurs tours des concentrations inhibitrices de 50 % de DPPH faibles (les extraits de l'origan et la menthe pouliot remarquent des IC_{50} faibles ($0,74 \pm 0,005$ mg/ml et $0,76 \pm 0,015$ mg/ml) et la forte concentration d'inhibition est représenté par l'extrait de la sarriette ($1,76 \pm 0,012$ mg/ml)).

Par contre les fortes IC_{50} caractérisent les extraits infusés (les extraits de *Origanum vulgare* et *Thymus serpyllum* sont les moins ($1,29 \pm 0,057$ mg/ml et $1,32 \pm 0,085$ mg/ml) et les extraits de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha* et *Mentha pulegium* sont les plus fortes par des valeurs supérieures à 2 mg/ml).

Le standard testé (acide ascorbique) enregistre de très bonne concentration inhibitrice avec une valeur de $0,43 \pm 0,013$ mg/ml.

3.2.3. Analyse statistique (ACP)

Les données traitées par l'analyse en composantes principales (ACP) sont le croisement entre les valeurs des IC_{50} des extraits affiliées respectivement à chaque taxon étudié.

- **Analyse du plan factoriel des individus (les espèces étudiées)**

Au niveau du plan factoriel ($F1 \times F2$), 82,53 % de l'information est expliqué par l'axe F1 et 11,65 % donnée par l'axe F2.

La contribution des différents individus (tableau 40) et la ségrégation de l'ACP sur le plan factoriel ($F1 \times F2$) (Figure 61) fait ressortir deux groupes principaux:

- **Le groupe 1 (Gr1)** est représenté par *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* et *Mentha pulegium*. Ce groupe réunit les espèces végétales qui ont une activité antioxydante élevée.

- **Le groupe 2 (Gr2)** regroupe *Phlomis crinita* et *Satureja calamintha*, espèces dont les activités antiradicalaires sont les plus faibles.

Tableau 40: Contribution des individus sur les axes 1 et 2

Espèces (Individus)	Axe 1	Axe 2
<i>Phlomis crinita</i>	-1,68369	-0,960136
<i>Satureja calamintha</i>	-2,18263	0,836445
<i>Origanum vulgare</i>	1,75865	0,211466
<i>Mentha pulegium</i>	0,93831	-0,252440
<i>Thymus serpyllum</i>	0,83325	0,037637
<i>Thymus vulgaris</i>	0,33611	0,127028

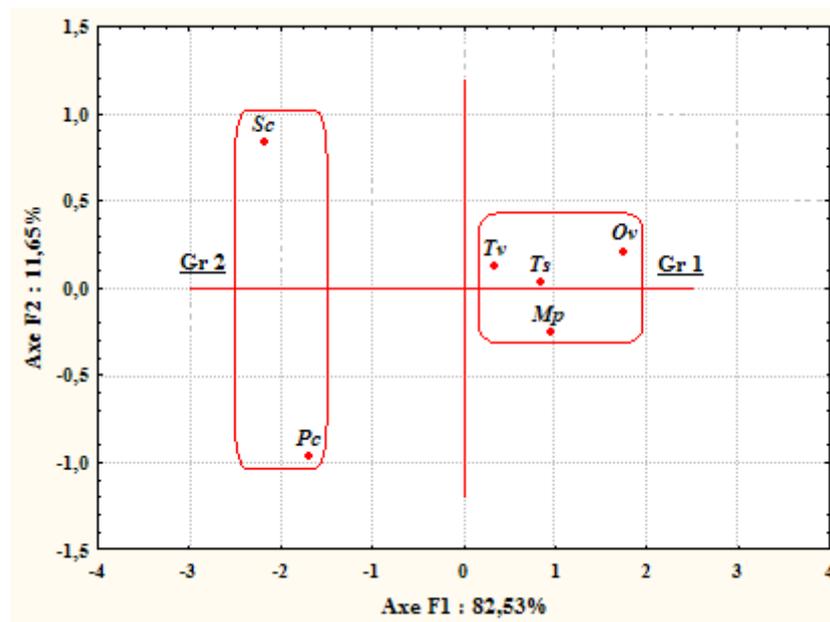


Figure 61: Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F2)

Gr: Groupe, Pc: *Phlomis crinita*, Sc: *Satureja calamintha*, Ov: *Origanum vulgare*, Mp: *Mentha pulegium*, Ts: *Thymus serpyllum*, Tv: *Thymus vulgaris*.

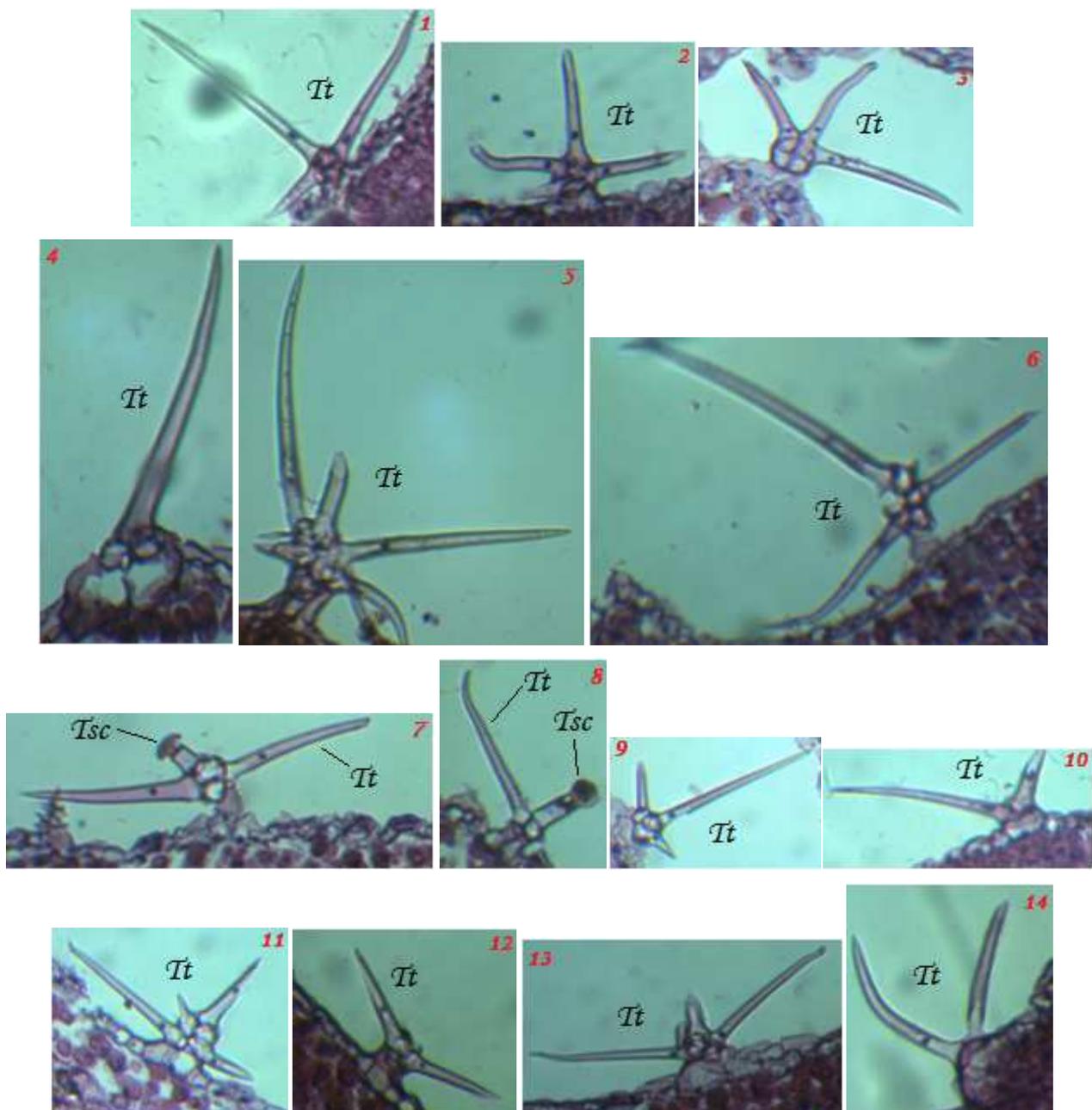
1.4. Anatomie

L'observation microscopique des coupes transversales réalisées au microtome des feuilles de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris*, colorées à l'hématoxyline-éosine, montre que les épidermes (inférieur et supérieur) portent plusieurs trichomes de type tecteur, sécréteur capité et sécréteur pelté et que leur nombre varie selon l'espèce.

Les types de trichomes des six espèces étudiées sont représentés par les planches de IX à XIV.

Planche IX: Photos des trichomes de *Phlomis crinita* ($G \times 100 \Rightarrow 100 \mu m$)

Trichomes tecteurs (Tt) (Fig. 1-18) Trichomes sécréteurs capités (Tsc) (Fig. 7, 8, 18, 19-29)



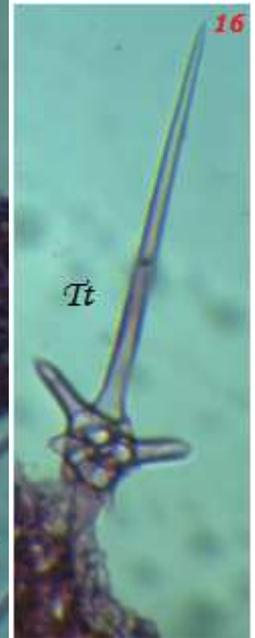


Planche X: Photos des trichomes de *Satureja calamintha* (Gr×100 \Rightarrow 100 μ m)

Trichomes tecteurs (Tt) (Fig. 1-20) Trichomes sécréteurs capités (Tsc) (Fig. 5, 7-9, 12, 14, 15, 20, 21)

Trichomes sécréteurs peltés (Tsp) (Fig. 22-24)

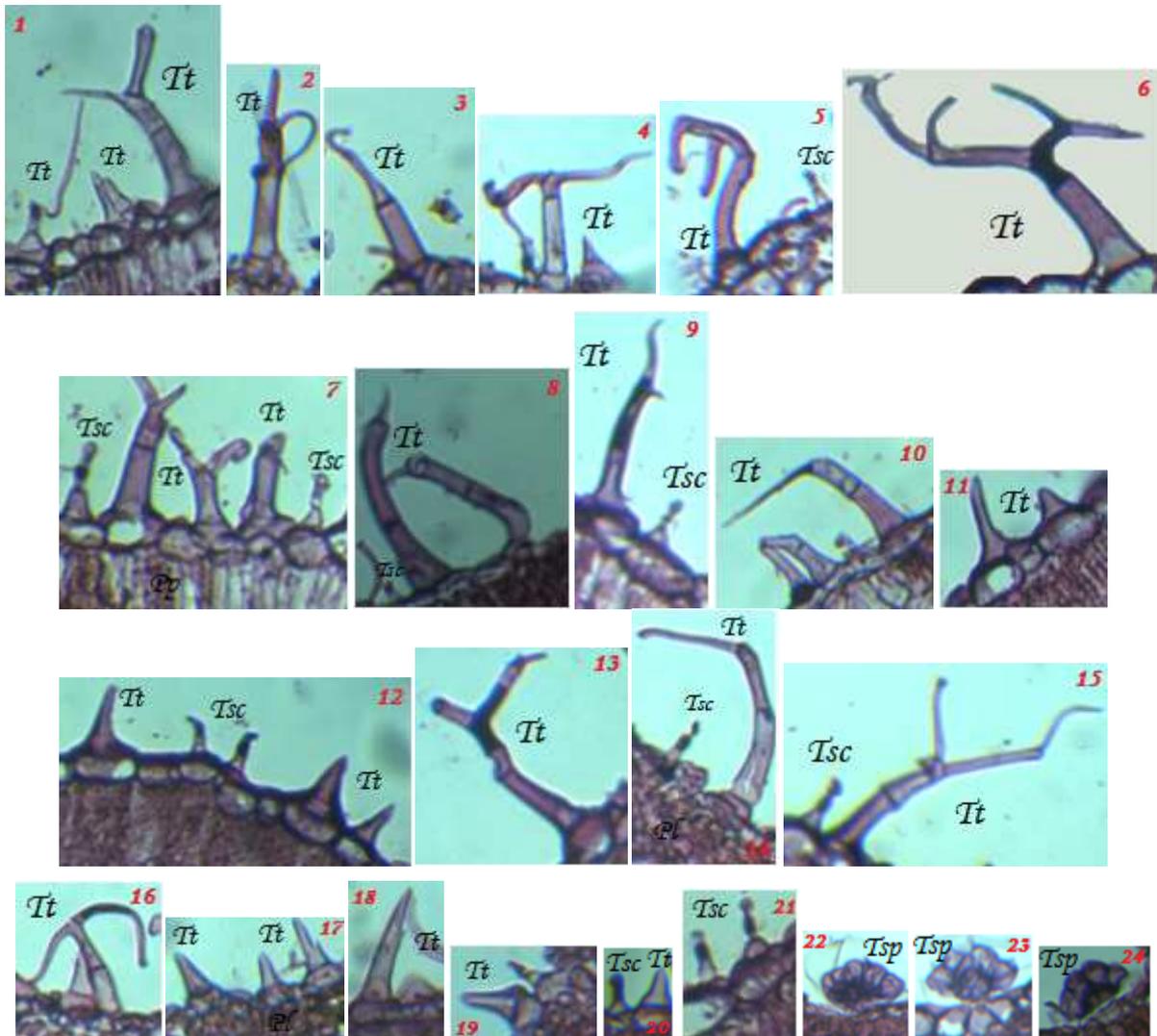


Planche XI: Photos des trichomes de *Origanum vulgare* (Gr×100 \Rightarrow 100 μ m)

Trichomes tecteurs (Tt) (Fig. 1-3) Trichome sécréteur capité (Tsc) (Fig. 10)

Trichomes sécréteurs peltés (Tsp) (Fig. 4-9)

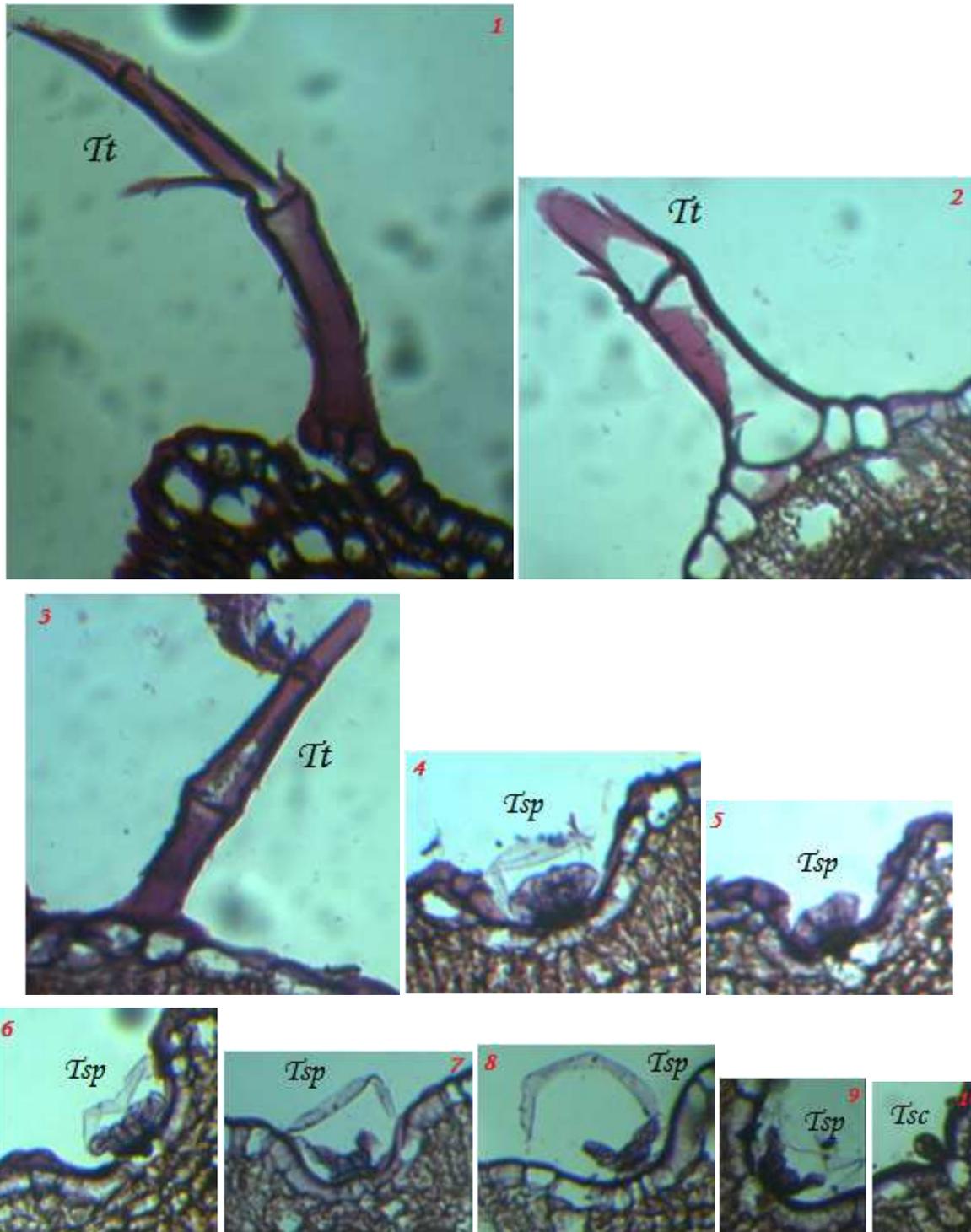


Planche XII: Photos des trichomes de *Mentha pulegium* ($G \times 100 \Rightarrow 100 \mu m$)

Trichomes tecteurs (Tt) (Fig. 1-7) Trichome sécréteur capité (Tsc) (Fig. 8)

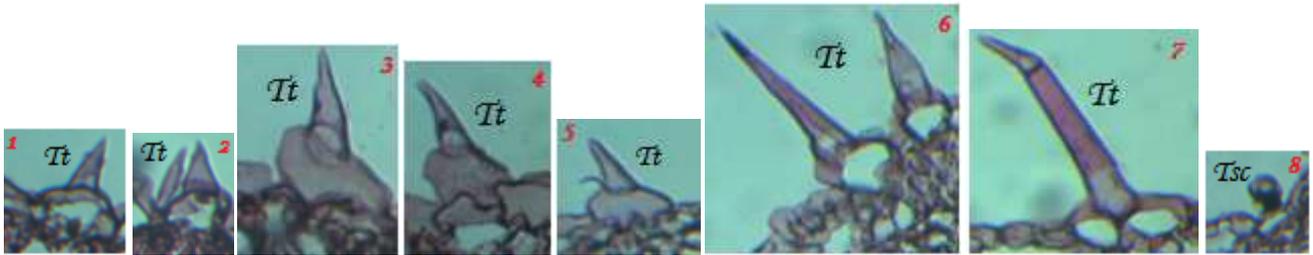


Planche XIII: Photos des trichomes de *Thymus serpyllum* ($G \times 100 \Rightarrow 100 \mu m$)

Trichomes sécréteurs peltés (Tsp) (Fig. 1-6) Trichomes tecteurs (Tt) (Fig. 7, 8)

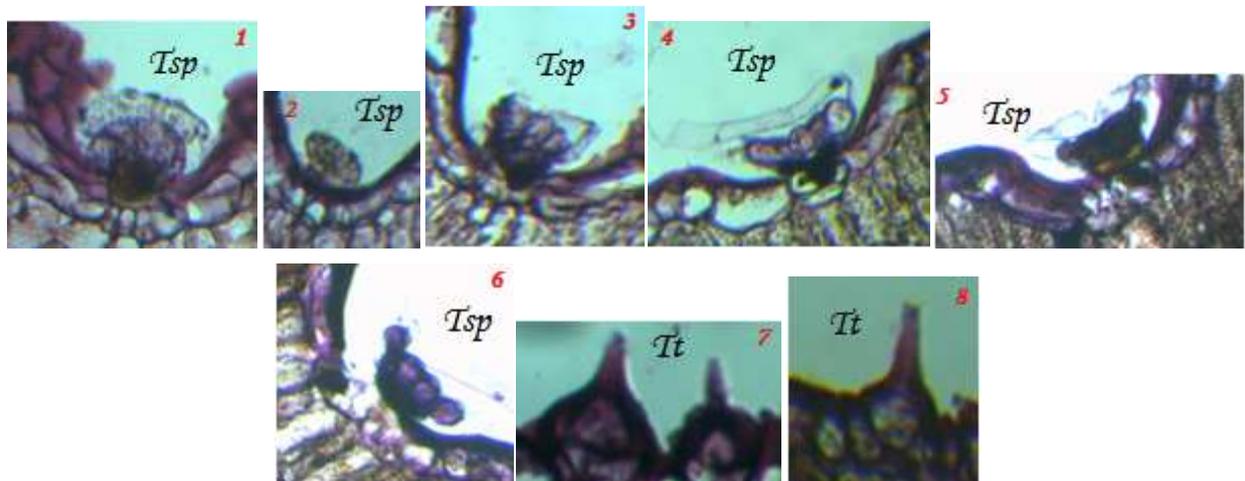
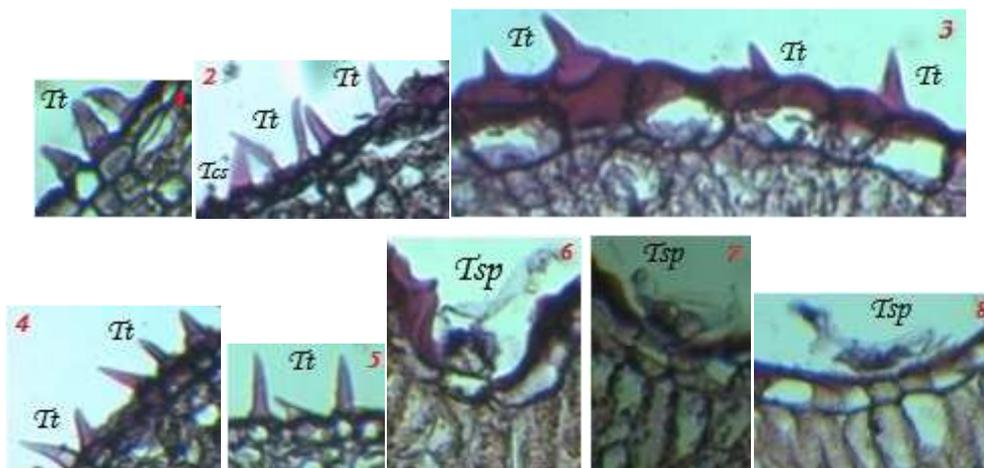


Planche XIV: Photos des trichomes de *Thymus vulgaris* ($G \times 100 \Rightarrow 100 \mu m$)

Trichomes tecteurs (Tt) (Fig. 1-5) Trichome sécréteur capité (Tsc) (Fig. 2)

Trichomes sécréteurs peltés (Tsp) (Fig. 6-8)



Tt: Trichome tecteur, **Tsc:** Trichome sécréteur capité, **Tsp:** Trichome sécréteur pelté,
Pp: Parenchyme palissadique, **Pl:** Parenchyme lacuneux.

- Les feuilles de *Phlomis crinita* et de *Mentha pulegium* portent des trichomes tecteurs (Tt) (non glandulaires) et des trichomes sécréteurs capités (Tsc) (glandulaires),
 - les feuilles de *Satureja calamintha*, de *Origanum vulgare* et de *Thymus vulgaris* contiennent les trois types de trichomes: tecteurs (Tt), sécréteurs capités (Tsc) et sécréteurs peltés (Tsp),
 - les feuilles de *Thymus serpyllum* portent des trichomes tecteurs (Tt) et sécréteurs peltés (Tsp).

Discussion

1. Dosage des polyphénols

Différents solvants sont utilisés dans les extractions des polyphénols (Turkmen *et al.*, 2007). Le méthanol est recommandé et le plus fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques (Falleh *et al.*, 2008).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques car des études montrent que les facteurs extrinsèques tels que les facteurs géographiques, climatiques et environnementaux (Ebrahimi *et al.*, 2008 ; Falleh *et al.*, 2008), les facteurs génétiques, le degré de maturation de la plante et la période de récolte ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Miliauskas *et al.*, 2004; Podsedek, 2007; Falleh *et al.*, 2008).

En effet, les teneurs en phénols totaux n'est pas stable et diffère d'une plante à une autre, selon les provenances des spécimens récoltés mais aussi entre les espèces du même genre, ce qui est vérifié par la comparaison entre les résultats obtenus chez les espèces étudiées: *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium*, *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris*.

Cette variation entre les six espèces a été confirmée par l'analyse de la variance. Cosio *et al.* (2006) signalent les mêmes variations lors d'une étude effectuée sur plusieurs espèces de la famille des Lamiacées d'Italie.

Les concentrations moyennes les plus élevées sont enregistrées dans les extraits des feuilles de *Origanum vulgare* ($71,04 \pm 4,97$ mg EAG/g). Des taux maximum, de l'ordre de 89 mg EAG/g sont notés aussi chez des espèces de ce même genre, notamment chez *Origanum sipyleum* (Nakiboglu *et al.*, 2007).

Le taux des phénols totaux Chez *Mentha pulegium* est comparable à celui de *Mentha spicata* (Scherer *et al.*, 2013).

Les résultats obtenus sur *Thymus vulgaris* ($57,97 \pm 1,48$ mg EAG/g) et *Thymus serpyllum* ($52,45 \pm 3,29$ mg EAG/g) corroborent parfaitement ceux de Fecka et Turek (2008). Kholkhal *et al.* (2013) obtiennent un taux très proche sur *Thymus ciliatus* où ils ont trouvés 64,23 mg/g. Sur un autre thym, endémique de l'Algérie (*Thymus algeriensis*), Khaled Khoudja (2014) enregistre des teneurs comparables aux nôtres ($52,85 \pm 1,56$ mg EAG/g).

Les feuilles de *Phlomis crinita* et *Satureja calamintha* renferment les concentrations les plus faibles ($23,53 \pm 1,31$ et $17,60 \pm 0,54$ mg EAG/g). Des valeurs très proches réalisées sur les extraits des feuilles de *Phlomis cretica* ($16,2 \pm 0,1$ mg EAG/g), de *Phlomis lanata* ($21,4 \pm 0,3$ mg EAG/g) et de *Satureja*

thymbra ($9,2 \pm 0,1$ mg EAG/g) sont obtenues dans les travaux de Proestos *et al.* (2013).

Selon Gomez- Caravaca *et al.* (2006), les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante.

Les feuilles de *Origanum vulgare* et de *Phlomis crinita* sont les plus riches en flavonoïdes avec des concentrations moyennes respectivement de $7,49 \pm 0,44$ mg EC/g et $7,34 \pm 0,36$ mg EC/g ; suivent les feuilles de *Thymus serpyllum* ($6,43 \pm 0,15$ mg EC/g), de *Thymus vulgaris* ($5,87 \pm 0,28$ mg EC/g) et de *Satureja calamintha* ($5,84 \pm 0,41$ mg EC/g). Cependant, une teneur de $4,29 \pm 0,40$ mg EC/g caractérise les feuilles de *Mentha pulegium*.

Ces valeurs sont proches de celles obtenues par Basli *et al.* (2012) sur *Origanum glandulosum* (6,10 mg/g).

Comme pour les phénols totaux, la teneur en tanins n'est pas stable et diffère en fonction de plusieurs facteurs tel que l'espèce, le stade phénologique et les facteurs climatiques (Muller-Harvey et Mc Allan 1992; Jean- Blain, 1998; Norton, 1999; Waterman, 1999).

Ces différences ont été confirmées par l'analyse de la variance à un seul critère pour les six espèces où les différences en teneurs moyennes des tanins condensés et hydrolysables sont très hautement significatives. Nos résultats (0,65 % - 1,9 %) sont comparables de ceux obtenus par Žugić *et al.* (2014) réalisés sur les extraits des feuilles de *Mentha pulegium* (1,5 % de tanins).

2. Screening phytochimique

Les analyses phytochimiques sur les extraits des végétaux sont une étape préliminaire et d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence des constituants connus par leurs activités physiologiques et leurs vertus médicinales (Sofowora, 1993).

Nos résultats montrent que *Phlomis crinita* contient des flavonoïdes. D'après Hajarolasvadi *et al.* (2006), les plantes du genre *Phlomis* contiennent différentes classes de flavonoïdes.

Le genre *Satureja* est caractérisé par la présence des flavonoïdes, des tanins et des saponines. Vârban *et al.* (2009) confirment que toutes les espèces du genre *Satureja* renferment ces métabolites. Les travaux de Bougandoura et Bendimered (2012) sur les feuilles de *Satureja calamintha* montrent que la réaction des alcaloïdes est négative mais celle des flavonoïdes et des tanins est positive, les saponosides et les composés stéroliques sont présents en faible quantité dans cette plante. Ces constatations sont en accord avec nos résultats.

Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les composés stéroliques sont présents dans les extraits de *Origanum vulgare*. Ces résultats sont remarqués aussi chez des espèces de même genre (*Origanum sipyleum*) (Moussaid *et al.*, 2012).

D'après les résultats des essais de caractérisation, différents groupes se présentant dans des feuilles de *Mentha pulegium* ont été identifiés comme les tanins, les saponines, les alcaloïdes et les flavonoïdes. Zekri *et al.* (2013) confirment ces résultats.

Selon les travaux antérieurs, les espèces du genre *Thymus* sont riches en flavonoïdes (Haraguchi *et al.*, 1996; Ismaili *et al.*, 2001). Ces données sont comparables avec nos résultats puisque les tests révèlent la présence des flavonoïdes dans les feuilles des espèces étudiées. Du point de vue biologique, ce groupe est constitué de principes potentiellement actifs rencontrés dans toute ou une partie de la plante. Ce sont des précurseurs de drogues très utiles en thérapie clinique (Sofowora, 1993).

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les feuilles des espèces du genre *Thymus*, notamment *Thymus ciliatus* montrent la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des stérols, des saponosides (Indice de mousee=50). On remarque conjointement avec les travaux de Kholkhal *et al.* (2013) l'absence des tanins galliques, des alcaloïdes, des coumarines et des anthocyanes.

3. Activités biologiques

Les rendements des extractions et les caractéristiques des différents extraits dépendent du type de solvant utilisé pour l'extraction et de l'espèce. Les extraits infusés renferment les taux de rendements les plus élevés et ceci chez les feuilles de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* tandis que chez *Thymus serpyllum*, l'extrait décocté est celui qui développe un rendement élevé. Chez *Thymus vulgaris*, l'extrait éthanolique représente un taux élevé.

Les extraits décoctés et infusés de *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* ont un aspect poudreux de couleur marron (clair ou foncé) par contre les extraits décocté et infusé de *Phlomis crinita* ont un aspect pâteux de couleur marron. Les extraits éthanoliques de *Phlomis crinita*, *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* ont un aspect huileux de couleur vert foncé tandis que les extraits éthanoliques de *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* sont pâteux de couleur vert et vert clair. L'extrait de *Satureja calamintha* est poudreux de couleur vert clair.

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement d'extraction n'est que relatif et semble être lié aux méthodes d'extraction appliquées (Markham, 1982), aux propriétés génétiques de l'espèce utilisée (Bruneton, 1999), à l'origine géographique (Narayana *et al.*, 2001) et aux conditions de récolte de la matière végétale (Lin et Weng, 2006).

3.1. Test antimicrobien

La méthode de diffusion en milieu solide retenue dans notre étude est utilisée le plus souvent car elle assure une bonne croissance des souches microbiennes testées et donne des résultats clairs et facilement interprétables (Horikawa *et al.*, 1999; Woo *et al.*, 2002).

L'antibiogramme montre que *Proteus mirabilis* est totalement sensible aux antibiotiques. Ces antibiotiques induisent une inhibition de la croissance de *Escherichia coli* enregistrant des diamètres d'inhibition de 30 mm par l'imipénème, l'aztréonam et le chloramphénicol, de 27 mm par la ceftazidime et 25 mm par la gentamicine et l'acide nalidixique. Cette importance d'inhibition est due au large spectre d'action de ces antibiotiques vis-à-vis des bactéries à Gram-négatif (Péchère et Vladoianu, 1992; Cometta *et al.*, 1994; Auajjar *et al.*, 2006). Parmi les souches bactériennes testées, *Bacillus cereus* est la souche la plus résistante à l'aztréonam et la ceftazidime. Elle produit de la bêta-lactamase et est considérée comme résistante à la majorité des antibactériens (Coonrod *et al.*, 1971). Cette bactérie est aussi résistante aux antibiotiques ciblant les parois cellulaires comme l'aztréonam (Mols *et al.*, 2007).

Pour l'antifongogramme, *Candida albicans* est totalement résistante aux antifongiques commercialisés qui n'induisent aucune zone d'inhibition vis-à-vis de cette souche. Plusieurs auteurs confirment la résistance de *Candida albicans* au Fluconazole (White, 1997; Franz *et al.*, 1998; Lopez-ribot *et al.*, 1999), à la terbinafine (Ryder *et al.*, 1998; Rathod *et al.*, 2012) et à l'amphotéricine (Mendiratta *et al.*, 2006). *Aspergillus brasiliensis* est beaucoup plus sensible à l'amphotéricine et à la terbinafine qui causent une inhibition totale de la croissance fongique, par contre du fluconazole qui induit des zones d'inhibition de 35 mm et 25 mm. En effet, les constatations de Sziget *et al.* (2012) confirment nos résultats où ils démontrent que la majorité des espèces du genre *Aspergillus* sont très sensibles à la terbinafine. L'amphotéricine agit de manière très hétérogène et selon les concentrations utilisées vis-à-vis *Aspergillus spp.* (Ellis, 2002).

D'après nos résultats relatifs aux activités antibactérienne et antifongique des extraits des espèces, nous remarquons que les extraits de *Phlomis crinita*

ont un effet modéré vis-à-vis les souches bactériennes et fongiques. Morteza-Semnani et Saeedi (2005) mentionnent que les différentes espèces du genre *Phlomis* montrent des effets antibactériens contre un large éventail de bactéries pathogènes. L'extrait éthanolique de la majorité des espèces de ce genre présente une activité antifongique contre les différentes espèces de *Candida* (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*) (Limem *et al.*, 2009).

Plusieurs études ont été réalisées sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des espèces du genre *Satureja* (Karami-Osboo *et al.*, 2010; Vagionas *et al.*, 2007), mais il y a un manque sur les travaux concernant *S. Calamintha*. Deux travaux, ceux de Castilho *et al.*, 2007 et Cherrat *et al.*, 2014 montrent une activité antimicrobienne remarquable de l'huile essentielle de *S. Calamintha* contre *Escherichia coli*.

Les extraits décocté et infusé de *Origanum vulgare* ont un potentiel similaire contre la bactérie *Escherichia coli*, alors que l'extrait éthanolique montre une efficacité relativement plus élevée contre cette souche. Ces mêmes constatations sont remarquées par Martins *et al.* (2014).

Les extraits de l'origan enregistrent une bonne activité antibactérienne vis-à-vis de *Proteus mirabilis*. Chaudhry *et al.* (2007) ont rapporté des effets inhibiteurs des extraits décocté et infusé contre les bactéries à Gram-négatif (*Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*). Ličina *et al.*, 2013 expliquent ces activités antimicrobiennes par la richesse de ces extraits en phénols totaux.

Les résultats de l'activité antibactérienne enregistrés contre la souche *Bacillus cereus* sont en accord avec ceux de Saeed et Tariq (2009) qui ont constaté que les extraits de l'origan (100 mg/ml) étaient sans activité antibactérienne contre les bactéries à Gram-positif (*B. cereus*).

Escherichia coli montre une faible sensibilité aux extraits de l'origan testés (22,22 %). Weerakkody *et al.* (2010) et Ličina *et al.* (2013) testant l'activité antimicrobienne des extraits ont remarqué, également, la faible sensibilité de *E. coli*.

En ce qui concerne l'activité antifongique de *Origanum vulgare*, les extraits inhibent la croissance de *Candida albicans* avec des diamètres de 13 mm au maximum. Kurşat *et al.* (2011) ont confirmé les effets de l'origan sur ce champignon (9,2 mm). Ličina *et al.* (2013) ont signalé que l'extrait éthanolique inhibe la croissance de *Candida albicans* à des concentrations comprises entre 2,5 mg/ml et 10 mg/ml.

L'activité antifongique des huiles essentielles de l'origan a été plus étudiée que l'activité des extraits. Manohar *et al.* (2001) ont démontré que l'huile d'origan inhibe efficacement *in vitro* et *in vivo* de la croissance de *Candida albicans*.

L'expérience sur les souris a indiqué les effets de l'huile de l'origan dans la prévention et le traitement des candidoses.

L'activité antibactérienne de *Mentha pulegium* montre que la quasi-totalité des bactéries testées sont résistantes aux extraits décoctés et infusés. Ces résultats sont en accord avec ceux de Teixeira *et al.* (2012).

L'extrait éthanolique n'inhibe pas les bactéries à Gram-négatif (*Escherichia coli*), néanmoins, toutes les bactéries à Gram-positif sont sensibles à cet extrait. La résistance des bactéries à Gram-négatif est due à la complexité de leur membrane à double couche de cellules par rapport à la membrane simple de bactéries à Gram-positif (Hogg, 2005) et en raison des lipopolysaccharides hydrophobes présents dans la membrane externe des bactéries à Gram-négatif ce qui offre une protection contre les différents agents (Nikaido et Vaara, 1985).

Dans l'ensemble, les huiles essentielles de *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* ont montré des activités antibactériennes significatives (Nikolić *et al.*, 2014). Ces huiles inhibent également la croissance de *Candida spp.* (Akpan et Morgan, 2002). Concernant le pouvoir antibactérien, l'effet le plus prononcé a été observé chez les bactéries à Gram-négatif (*Escherichia coli*) (Nikolić *et al.*, 2014).

La majorité des études montre l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des thyms, soit individuellement, (Abdul sattar *et al.*, 2012; Oussalah *et al.*, 2007) soit en combinaison avec d'autres huiles essentielles (Al-Bayati, 2008; Kon et Rai, 2012) ou avec des agents antimicrobiens classiques (Van Vuuren *et al.*, 2009). Peu de travaux rapportent l'utilisation des extraits.

Nos résultats montrent que les extraits éthanoliques, décoctés et infusés du thym et du thym serpolet possèdent les pouvoirs antibactérien et antifongique les plus élevés.

En outre, Martins *et al.* (2015) démontrent le pouvoir antimicrobien des extraits décocté, infusé et hydroalcoolique de *Thymus vulgaris* contre *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*. Dababneh (2007) a signalé une activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des thyms vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Néanmoins, les concentrations d'extrait étaient plus élevées (100, 200, 400, 600, 800 et 1000 mg/mL) que ceux testés dans le présent travail (2,5 mg / ml). Par conséquent, l'ensemble de ces travaux et des résultats confirment l'utilisation traditionnelle de thym contre diverses infections.

Les diamètres d'inhibitions enregistrés par les extraits des différentes espèces sont comparables à ceux obtenus par les antibiotiques et les antifongiques commercialisés. *Candida albicans* était totalement résistant aux trois antifongiques testés. Par contre, tous les extraits analysés enregistrent au moins une zone d'inhibition vis-à-vis de cette souche, avec un diamètre

d'inhibition maximum de 20 mm noté avec l'extrait infusé de *Thymus serpyllum*. Des constatations ont été remarquées chez *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* où les antibiotiques testés donnent un diamètre d'inhibition maximum de 30 mm vis-à-vis de *Escherichia coli* et une inhibition totale de la croissance chez *Proteus mirabilis*. Sur ces deux souches bactériennes, les extraits analysés étaient beaucoup moins actifs avec des diamètres maximum respectifs de 28 mm et 23 mm vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* (extrait éthanolique de *Thymus serpyllum*).

Les différences notées dans les pouvoirs antimicrobiennes des différents extraits des six espèces étudiées sont dues à l'effet combiné de plusieurs facteurs tels que la nature de l'espèce, les facteurs écologiques, les méthodes d'extraction (Sagdic et Ozcan, 2003; Moreira *et al.*, 2005; Celiktas *et al.*, 2007; Turkmen *et al.*, 2007) et le solvant utilisé ainsi que la sensibilité des bactéries et les concentrations des extraits administrés (Loziene *et al.*, 2007; Ulukanli et Akkaya, 2011).

Plusieurs auteurs ont confirmé qu'une même espèce poussant dans des conditions écologiques hétérogènes accumule des métabolites secondaires avec différentes concentrations et diverses caractéristiques (Huang et Guo, 2007; Guo *et al.*, 2013).

Tous ces facteurs influencent la biosynthèse des composés des plantes et par conséquent leurs pouvoirs antibactérien et antifongique.

3.2. Activité antioxydante

La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de nos plantes car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (Bozin *et al.*, 2008 ; Huang *et al.*, 2005).

L'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* est exprimée en pourcentages d'inhibition et en concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀). Ces deux paramètres ont été employés dans plusieurs recherches pour présenter l'activité antioxydante de différents métabolites secondaires de diverses plantes (Atoui *et al.*, 2005; Bertonselj *et al.*, 2007; Canadanovic-Brunet *et al.*, 2005; Kumaran et Joel Karunakaran, 2007).

L'utilisation de l'analyse en composantes principales a été retenue pour synthétiser les résultats et pour éventuellement ressortir le groupe des espèces qui recèlent les activités antioxydantes les plus importantes en relation avec les modes optimaux d'extraction.

Les études sur les extraits des différentes espèces végétales montrent que la famille des *Lamiaceae* possède les activités antioxydantes les plus fortes (Lamaison et Petitjeanfreytet, 1996; Shan *et al.*, 2005; Zheng et Wang, 2001). Les résultats obtenus confirment que les extraits de *Origanum vulgare*, de *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum* et *Mentha pulegium* possèdent une activité antiradicalaire importante. Ces mêmes constatations sont signalées par Kulišić *et al.* (2006) sur les extraits des feuilles de *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* et *Thymus serpyllum*. Scherer et Godoy (2009) montrent que les extraits éthanolique et décocté de *Mentha pulegium* sont classés respectivement en tant qu'antioxydants modérés et très forts.

Nos résultats montrent que les extraits de *Satureja calamintha* sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré. Ces valeurs sont en accord avec ceux obtenues par Bougandoura et Bendimered (2012). *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* proposent les pouvoirs antioxydants les plus élevés.

L'étude du pouvoir antioxydant des extraits éthanolique, décocté et infusé de *Phlomis crinita* n'a jamais été entrepris.

L'acide ascorbique enregistre une faible concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) (0,43 ± 0,013 mg/ml). En comparant cette IC₅₀ avec celles enregistrées par les extraits, nous remarquons que l'extrait décocté de *Origanum vulgare* avec une IC₅₀ de 0,32 ± 0,025 mg/ml est plus puissant que le standard analysé. Ces résultats approuvent l'efficacité antioxydante de l'extrait de l'origan.

Les figures 54-58 montrent que les extraits décoctés présentent l'activité antiradicalaire la plus élevée, suivie par l'extrait éthanolique. L'activité antioxydante la plus faible est celle de l'extrait infusé. Travaillant sur les trois extraits de *Thymus vulgaris* (infusé, décocté et extrait hydroalcoolique), Martins *et al.* (2015) ont mentionné que l'activité antioxydante de l'extrait décocté est la plus élevée.

Aussi, l'extrait décocté de *Mentha pulegium* est celui qui possède l'activité de piégeage des radicaux libres la plus élevée suivi ensuite par l'extrait éthanolique et l'extrait infusé (Teixeira *et al.*, 2012).

La plupart des études menées dans ce contexte expliquent la variation de l'activité antioxydante en fonction des solvants d'extraction par la polarité de ces derniers ce qui influe sur la composition phytochimique et par conséquent sur le potentiel antioxydant (The *et al.*, 2014 ; Yang *et al.*, 2014).

Sharma et Bhat (2009), Shizuka et Kawabata (2005) stipulent que la variation de l'activité antioxydante en fonction des solvants d'extraction est due essentiellement à la variabilité dans leurs profils d'absorbance de DPPH.

L'activité antioxydante des extraits décoctés est plus élevée que celle des extraits organiques parce que les composants actifs tels que les flavonoïdes, terpénoïdes, les polyphénols, les caroténoïdes et les stérols sont localisés dans la section des fibres des plantes et sont plus facilement dissous dans l'eau (Rahmat *et al.*, 2003).

Koleva *et al.* (2000), Von Gadow *et al.* (1997) notent que l'extrait décocté, chimiquement très diversifié, est constitué par plusieurs composés comme l'acide rosmarinique, l'acide caféique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'apigénine, la lutéoline et la quercétine. Ces substances possèdent des capacités élevées du piégeage de radical libre. Elles sont aussi responsables des cinétiques les plus rapides.

Wojdylo *et al.* (2007), Katalinic *et al.* (2006), Atmani *et al.* (2009) ont rapporté une corrélation entre les teneurs en polyphénols et les propriétés antioxydantes. Les variétés et les quantités des composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les flavonols sont déterminantes pour l'activité antioxydante (Vermerris et Nicholson, 2006; Yumrutas et Saygideger, 2012).

Les phénols sont des composés organiques qui contiennent un groupe hydroxyle lié directement à l'anneau aromatique et l'H-atome du groupe hydroxyle qui peut emprisonner des radicaux de peroxy, empêchant d'autres composés à oxyder (Nguyen *et al.*, 2003). De cette façon, l'activité antioxydante est due à la présence des phénols. D'autres composés tels que l'acide ascorbique, le tocophérol et certains pigments contribuent aussi au pouvoir antioxydant des plantes (Li *et al.*, 2005).

Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, constituants abondants chez *Origanum vulgare* sont responsables de son activité antioxydante (Chou *et al.*, 2010; Ding *et al.*, 2010; Liang *et al.*, 2012; Vichi *et al.*, 2001). Lagouri et Boskou (1996) mentionnent que cinq composés phénoliques majoritaires des extraits de l'origan, l'acide protocatéchique et son glucoside, l'acide caféique, l'acide rosmarinique et un acide phénolique dérivé de l'acide rosmarinique contribuent à l'activité antioxydante élevée de cette espèce. D'autres études montrent que d'autres composés phénoliques de cette même espèce possèdent une forte activité antioxydante comme le 3,4-dihydroxyphenyl, la gastrodine et le 3-(3,4-dihydroxyphenyl) acide lactique (Kikuzani et Nakatani, 1989; Liu *et al.*, 2012).

Les principaux composés phénoliques de *Thymus vulgaris* et *Thymus serpyllum* sont l'acide rosmarinique, la lutéoline-7-O- β -glucuronide et le glucoside de lutéoline (Fecka et Turek, 2008). L'activité antioxydante due essentiellement aux constituants phénoliques justifie les utilisations traditionnelles des thyms (Hazzit *et al.*, 2009; Takacsova *et al.*, 1995).

Kamkar *et al.* (2010) indiquent l'importance de l'activité antioxydante des extraits de *Mentha pulegium* ce qui est attribuée à la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits. Les composés phénoliques par leurs propriétés de réduction associées à leurs groupes OH sont responsables de la capacité antioxydante élevée de *Mentha pulegium* (Shamohamadi *et al.*, 2014).

Les plus basses capacités de balayage de DPPH sont rattachées à *Satureja calamintha* (Cherrat *et al.*, 2014). La faible activité antioxydante de cette espèce est expliquée par le manque de composés phénoliques (Ruberto et Baratta, 2000).

4. Anatomie

D'après nos résultats, nous avons observé des trichomes sur les deux faces des feuilles de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris*.

En effet, plusieurs études ont signalé l'importance du trichome dans la lutte contre les falsifications chez les *Lamiaceae*. Chez les espèces du genre *Satureja*, l'anatomie des trichomes est très importante pour différencier les espèces (Bosabalidis, 1990). Svoboda *et al.* (2001) indiquent dans leur étude que, particulièrement chez les *Lamiaceae*, la description du trichome est très pertinente pour la valeur commerciale de la drogue, pour la vérification de l'authenticité d'une espèce. Abdel Nour et Arnold (2004) ont constaté que l'examen macroscopique et microscopique ont permis d'identifier chacune des espèces utilisées en médecine traditionnelle et de conclure si elle est conforme ou non à la drogue officinale.

Les métabolites secondaires sont également contenus dans les trichomes foliaires (Nabors, 2009). Les trichomes sécréteurs qui se développent à partir des cellules épidermiques sont généralement considérés comme un emplacement de biosynthèse ou d'accumulation d'huiles essentielles (Nishizawa *et al.*, 1992; Turner *et al.*, 2000).

Dans les espèces de la famille des *Lamiaceae*, les trichomes sécréteurs sont, en fait, largement distribués sur les organes végétatifs et reproducteurs (Serrato-Valenti *et al.*, 1997; Ascensão *et al.*, 1999; Corsi et Bottega, 1999; Rodrigues *et al.*, 2006) et leurs structures changent considérablement parmi l'espèce (Serrato-Valenti *et al.*, 1997; Kaya *et al.*, 2003) et l'organe (Ascensão *et al.*, 1999).

Nous avons remarqué que le nombre de trichomes est généralement un caractère très variable, qui est fortement influencé par des facteurs

environnementaux externes tels que la température et l'intensité de la lumière (Stenglein et Arrambari, 2005; Krstic et al., 2006).

Dans nos observations, nous avons pu constater que *Phlomis crinita* possède une diversité remarquable des trichomes sécréteurs et tecteurs (Planche IX). Azizian (1980); Azizian et Cutler (1982) montrent aussi et confirment que les trichomes tecteurs, surtout les ramifiés sont reconnus comme une caractéristique des espèces du genre *Phlomis*.

Dans la section *Phlomoïdes* Moench, deux types de base des trichomes peuvent être identifiées: tecteur et sécréteur. Les deux types de trichomes peuvent être simples ou divisés. Selon leur taille, les trichomes tecteurs peuvent être subdivisés en trois sous-types: courtes, longues et très longues (plus de 3 mm) (Seyedi et Salmaki, 2015). Cela est confirmé dans nos observations histologiques au niveau de la planche IX (Fig. 16).

Nous remarquons une densité élevée des trichomes sécréteurs peltés sur les feuilles de *Origanum vulgare* (Planche XI (Fig. 4-9)). Cette densité a été également rapportée dans d'autres travaux (Bosabalidis et Kokkini, 1997; Bosabalidis et al. (1998); Ietswaart, 1980; Kofidis et al., 2003). Le climat peut avoir un effet sur la morphologie et le nombre des trichomes chez l'origan, Bosabalidis et Tsekos (1982a, b) ont constaté que le nombre de trichomes sécréteurs diminue chez les espèces soumises à climat continental. Kofidis et al. (2003) ont montré que les trichomes tecteurs augmentent en nombre avec l'altitude, alors que les trichomes sécréteurs diminuent.

Dans quelques chemotypes du *Origanum vulgare*, Werker et al., (1985) ont observé des trichomes sécréteurs peltés. Ils ont un rôle protecteur en particulier chez les feuilles jeunes. Les trichomes capités ont également un rôle important pour l'accumulation et la composition d'huile essentielle aux usines d'origan (Shafiee-Hajiabad et al., 2014).

Nous remarquons deux types de trichomes sur les feuilles de *Mentha pulegium* (Planche XII): trichomes tecteurs (Fig. 1-7) et trichomes sécréteurs capités (Fig. 8). Ces deux structures ont été également décrites par Karray-Bouraoui et al. (2009). Les trichomes sécréteurs capités qui se trouvent sur les feuilles de *Mentha pulegium* appartiennent au type I avec une tige courte et une petite tête de sécrétion (Karray-Bouraoui et al., 2009). Leur structure est semblable à ceux de trichomes capités de *Mentha spicata*, *Mentha spicata* × *suaveolens*, et *Mentha piperita* (Martins, 2002).

En effet, Farooqi et al. (1999) rapportent qu'un certain nombre de conditions/facteurs environnementaux ont un impact élevé sur l'exécution des usines d'espèces de *Mentha* comprenant le contenu et la composition d'huile essentielle.

Les feuilles de *Thymus vulgaris* portent des trichomes tecteurs et sécréteurs sur les deux côtés (Planche XIV). Bruni et Modenesi (1983) montrent que *Thymus vulgaris* contient des trichomes peltés. La densité des trichomes tecteurs était plus élevée par rapport à la densité des trichomes capités et peltés. Ces mêmes résultats sont signalés par Marin *et al.* (2008) sur une espèce du genre *Thymus* (*Thymus malyi* Ronninger).

L'évolution des trichomes en fonction des stades de développement a été étudiée chez *Mentha piperita* L. (Amelunxen, 1965), *Origanum dictamnus* L. (Bosabalidis et Tsekos, 1982a, b), et *Nepeta racemosa* Lam. (Bourett *et al.*, 1994). Certains auteurs ont noté que les trichomes sécréteurs s'installent très tôt durant la différenciation des feuilles (Ascensão et Pais, 1987), d'autres ont conclu que le nombre de trichomes augmente avec les stades de développement des feuilles (Unzelman et Healey, 1974; Turner *et al.*, 1980; Croteau *et al.*, 1981; Maffei *et al.*, 1986, 1989).

Conclusion

Conclusion

L'étude menée sur les six labiées retenues (*Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.) a permis la quantification des composés phénoliques, le criblage phytochimique des métabolites secondaires, l'évaluation du pouvoir antibactérien, antifongique et de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques, décoctés et infusés, ainsi que l'identification des différents trichomes caractérisant ses feuilles par une approche histologique et anatomique.

Le dosage quantitatif des polyphénols a révélé que *O. vulgare*, *M. pulegium*, *T. serpyllum* et *T. vulgaris* sont plus riches en polyphénols par rapport à *P. crinita* et *S. calamintha* qui présentent des teneurs plus faibles.

Le screening phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser les flavonoïdes, les tanins condensés, les alcaloïdes, les coumarines, les anthocyanes et les saponosides. Ces métabolites secondaires possèdent des valeurs thérapeutiques éminentes.

Les résultats obtenus dans ces différents volets révèlent la diversité et la richesse de ces taxons en substances actives ce qui confirme leurs valeurs phytochimiques et qui en plus, aussi souligne la justification de leur valorisation. Le fait que ces espèces soient assez communes, excepté *Phlomis crinita*, espèce rare, ouvre la voie à l'exploitation rationnelle de ces ressources.

Les tests du pouvoir antimicrobien des extraits éthanoliques, décoctés et infusés des feuilles des six taxons choisis vis-à-vis de trois souches bactériennes et deux souches fongiques montrent que l'effet antimicrobien des extraits varie en fonction de l'espèce, de type d'extrait et ses concentrations et de type de souche et sa sensibilité ou sa résistance. Les extraits produisent des zones d'inhibition avec des diamètres entre 7 et 28 mm, ce qui traduit des taux de sensibilité variant entre 8,33 % à 100 % chez les souches microbiennes étudiées. Parmi ces six taxons, les thyms sont ceux qui ont le pouvoir antimicrobien élevé.

Les résultats de l'activité antioxydante nous ont permis de vérifier l'importance de six *Lamiaceae*. Les genres *Origanum*, *Mentha* et *Thymus* se dressent comme les taxons qui recèlent le plus de pouvoir oxydant. Aussi, les résultats obtenus confirment que les extraits décoctés sont ceux qui piègent le plus de radicaux libres, suivis par les extraits éthanoliques et en fin les extraits infusés. Ainsi, une classification spécifique des taxons relative aux

concentrations des produits antioxydants est établie ainsi que les modes d'extraction qui libèrent le plus ces substances antioxydantes.

Ces constatations confirment les pouvoirs biologiques de ces espèces. Ces labiées de l'Algérie occidentale, et surement les autres taxons de la même famille de notre pays recèlent de substances biologiquement très actives, ce qui confirme la nécessité de scruter ces voies en vue de leurs utilisations en phytothérapie appliquée.

L'étude anatomique des six taxons a permis de constater que ces espèces ont une diversité remarquable des trichomes sécréteurs et tecteurs. Nos observations démontent que les trichomes sont des caractères distinctifs entre les différentes espèces. Ainsi, une ébauche de différenciation histologique au niveau des trichomes au sein de la famille des labiées est initiée. Des observations microscopiques ultérieures sur d'autres taxons de cette famille botanique, mais aussi sur d'autres tissus de ces plantes peuvent éclairer les différences anatomiques entre elles avec les incidences sur leur taxonomie.

Suggérons enfin, que des études encore plus exhaustives sur des groupes comme les labiées, groupe riche de la flore algérienne et très utilisé par la population dans diverses phytothérapies informerons sur les détails structurels et compositionnels de ces taxons mais guideront surtout vers des utilisations plus raisonnées de ces drogues.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abdel-Hameed E.S.** 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chemistry*. 114:1271-1277.
- Abdelnour R., et Arnold N.** 2004. Contribution à l'étude ethnopharmacologique et pharmacognosique des drogues médicinales les plus utilisées et vendues par les herboristes du Liban et recherche de leurs falsifications. *Annales de Recherche Scientifique*. Publications de l'université Saint-Esprit de Kaslik. 5: 37-51.
- Abdul sattar B.A., Hassan A.M., et Hassan A.S.** 2012. *In vitro* antimicrobial activity of *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* against dental caries pathogens. *Haitham Journal for Pure and Applied Science*. 25: 1-7.
- Abraham E.P., et Chain E.** 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*. 146: 837.
- Abrassart J.L.** 1997. Aromathérapie essentielle : huiles essentielles ; parfums pour le corps et l'âme. *Editions Guy trédaniel*. 271p.
- Akbas S.H., Yegin A., et Ozben T.** 2005. Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. *Clinical Biochemistry*. 38 (11): 1009-1014.
- Akpan A., et Morgan R.** 2002. Oral candidiasis. *Postgrad. Mediterranean Journal*. 78(2): 455-459.
- Al-Bayati F.A.** 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 116: 403-406.
- Ali Kouani S., El Jamali S., et Talbi M.** 2007. Analyse en composantes principales: une méthode factorielle pour traiter les données didactiques. Faculté des Sciences. Ben M'Sik, Université Hassane II. Radisma 2, pp. 1-18.
- Amiot J.** 2005. *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.
- Arnold N., et Bellomaria B.** 1993. Observations morphoanatomiques et histochimiques dans les *Salvia willeana* (Holmboe) Hedge et *Salvia fruticosa* Mill. De Chypre. *Flora Mediterranea*. 3: 287-297.
- Arvy M-P., et Gallouin F.** 2007. Epices, aromates et condiments. *BELIN*. 412p.
- Ascensão L., et Pais M.S.** 1987. Glandular trichomes of *Artemisia campestris* (ssp. *maritima*): ontogeny and histochemistry of the secretory product. *Botanical Gazette*. 118: 221-227.
- Ascensão L., Mota L., et Castro M.** 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany*. 84: 437-447.

- Atmani D., Chafer N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., et Atmani D.** 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected algerian medicinal plants. *Food Chemistry*. 112: 303-309.
- Atoui A.K., Mansouri A., Boskou G., et Kefalas P.** 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*. 89: 27-36.
- Auajjar N., Attarassi B., Elhaloui N.E., et Badoc A.** 2006. Multirésistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas Fluorescens* et *staphylococcus aureus* et survie sur divers tissus hospitaliers. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*. 145: 61-76.
- Azcan N., Kara M., Demirci B., et Baser K.H.** 2004. Fatty acids of the seeds of *Origanum onites* L. and *O. vulgare* L. *Lipids*. 39: 487-489.
- Aziz S., Irshad M., et Ur-Rehman H.** 2014. Isolation of a new antibacterial polyphenol from *Thymus serpyllum*. *Chemistry of Natural Compounds*. 49 (6): 1023-1027.
- Azizian D.** 1980. Taxonomic studies in *Phlomis* L. (*Labiatae*) and related genera. Reading University. Ph.D. thesis.
- Azizian D., et Cutler D.F.** 1982. Anatomical: cytological and phytochemical studies on *Phlomis* L. and *Eremostachys Bunge* (*Labiatae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 85: 249-281.
- ⌘
- Baba Aissa F.** 1999. Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition : Librairie Moderne- ROUIBA. 368p.
- Bahorun T.** 1997. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius*. 83-94.
- Baldovini N., Ristorcelli D., Tomi F., et Casanova J.** 2000. Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta* from Corsica (France). *Flavour and Fragrance Journal*. 15 : 50-54.
- Balladin D.A., et Headley O.** 1999. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. 17: 523-531.
- Barlow S.M.** 1990. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. ed. Hudson B.J.F. *Food Antioxidants*, Elsevier, Amsterdam, pp: 253-307.
- Basli A., Chibane M., Madani K., et Oukil N.** 2012. Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. 10: 2-9.
- Bastide A., De Méo M., Andriantsoa M., Laget M., et Duménil G.** 1986. Isolement et sélection de souches d'actinomycètes productrices de substances antifongiques de structure non-polyénique. *mircen Journal*. 2: 453-466.
- Beauvais M.** 2000. Promenades : Les plantes médicinales. *Éditions Gründ. Paris*. 95p.
- Beghidja N., Bouslimani N., Benayache F., Benayache S., et Chalchat J.C.** 2007. Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*. 43(4): 481- 483.

- Bellakhdar J.** 1997, La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Édition Ibis press..Paris.*
- Benarous J.G., Todeschi N.E., Ladam P., Bertho G., Delaforge M., Girault J.P., et Carbajo R.J.** 1999. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions.* 2: 529.
- Benyahia M., Benabdelli K., et Mouaden K.** 2001. Géologie, pédologie et systèmes de production dans les monts de Tessala (Sidi Bel Abbés). *Rev. Sciences de la nature et de l'environnement. Ecosystèmes.* 1 : 70- 75.
- Bertoncelj J., Dobersek U., Jamnik M., et Golob T.** 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian Honey. *Food Chemistry.* 105: 822-828.
- Bérubé-Gagnon J.** 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de l'université de Québec.
- Bosabalidis A., Garieli C., et Niopas I.** 1998. Flavone aglycones in glandular hairs of *Origanum x intercedens*. *Phytochemistry* 49(6): 1549-1553.
- Bosabalidis A.M., et Kokkini S.** 1997. Intraspecific variation of leaf anatomy in *Origanum vulgare* grown wild in Greece. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 123: 353-362.
- Bosabalidis A.M., et Tsekos I.** 1982a. Ultrastructure of the essential secretion in glandular scales of *Origanum dictamnus* L. leaves. *In: Aromatic plants: basic and applied aspects.* Margaris N., Koedam A., et Vokou D. (eds), *Martinus Nijhoff Publishers. The Hague.* 3-12.
- Bosabalidis A.M., et Tsekos I.** 1982b. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. *Planta.* 156: 496-504.
- Bosabalidis M.** 1990. Glandular trichomes in *Satureja thymbra* leaves. *Annals of Botany.* 65: 71-78.
- Bosio K., Avanzini C., D'avolio A., Ozimo O., et Savoia D.** 2000 *In vitro* activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Letters in Applied Microbiology.* 31: 174-177.
- Bougandoura N., et Bendimered N.** 2012. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *nepeta* (L.) Briq. *Nature Biotechnology.* 9: 14-19.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Bouhdid D., Skali N.S., et Abrini J.** 2006. *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir.* 324-327.
- Boukef M.K.** 1986. Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. *Ed. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris.*
- Bouklikha M.** 2001. Essai d'améliorations édaphiques des sols argileux pour une occupation optimale (cas du versant sud de Tessala). Mémoire de Magister. Université de Sidi el Abbés. 79+ Annexe.
- Bourett T.M., Howar R.J., Okeefe D.P., et Hallahan D.L.** 1994. Gland development on leaf surfaces of *Nepeta racemosa*. *International Journal of Plant Sciences.* 155: 623-632.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., et Igetic R.** 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*). *Food Chemistry.* 111: 925-929.

- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., et Berset C.** 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28: 25-30.
- Bremness L.** 2007. Plantes aromatiques et médicinales. *Larousse*. 304p.
- Broadhurst C. L., Chaney R. L., Angle J.S., Mangel T.K., Erbe E.F., et Murphy C.A.** 2004. Simultaneous hyperaccumulation of nickel, manganese, and calcium in *Alyssum* leaf trichomes. *Environmental Science and Technology*. 38: 5797-5802.
- Brouillard R.** 1986. The flavonoids Advances. *Research science*: 525-538.
- Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. Paris. *Technique et Documentation*. 1120p.
- Bruneton J.** 2009. Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4^e édition. *Revue et augmentée*. Paris. *Tec & Doc Éditions médicales internationales*. 1288 p.
- Bruni A., et Modenesi P.** 1983. Development, oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* L. *Nordic Journal of Botany*. 3(2): 245-251.
- Bssaibis F., Gmira N., et Meziane M.** 2009. Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* L. *Revue de Microbiologie Industrielle, Santé et environnement*. 3, 44-55.
- Burchard H.** 1890. *Beitrag zur Kenntnis des Cholesterins*. *Chemisches Zentralblatt*. 61: 26.
- e
- Callery E.** 1997. *Das große Buch der Kräuter, Anbau, Verarbeitung und Verwendung von 50 beliebigen Kräutern*, Köhler Verlagsgesellschaft mbH, Köln.
- Camefort H.** 1977. Morphologie des végétaux vasculaires: Cytologie. Anatomie. Adaptations. *DOIN, éditeurs*. 431 p.
- Canadanovic-Brunet J.M., Djilas S.M., et Cetkovic G.S.** 2005. Free radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium*) extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 265-272.
- Castilho P., Liu K., Rodrigues A.I., Feio S., Tomi F., et Casanova J.** 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Clinopodium ascendens* (Jordan) Sampaio from Madeira. *Flavour and Fragrance Journal*. 22: 139-144.
- Celiktas O.Y., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T., et Basek K.H.C.** 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*. 100: 553-559.
- Chalchat J.C., Gorunovic M.S., Maksimovic Z.A., et Petrovic S.D.** 2000. Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*. 12: 598-600.
- Charif K.** 2001. Contribution à une approche de développement agroforesterie de la commune de Tessala (Sidi Bel Abbés). 120p.
- Chaudhry N.M.A., Saeed S., et Tariq P.** 2007. Antibacterial effects of oregano (*Origanum vulgare*) against gram negative bacilli. *Pakistan Journal of Botany*. 39: 609-613.

Chellal D., et Redjala M. 2003. Contribution à l'amélioration de quelques propriétés physiques d'un sol argileux par amendement au sable (cas du versant sud de Tessala).

Cherrat L., Espina L., Bakkoli M., Pagán R., et Laglaoui A. 2014. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science Emerging*. 22: 221-229.

Choi Y.E., Harada E., Wada M., Tsuboi H., Morita Y., Kusano T., et Sano H. 2001. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. *Planta*. 213: 45-50.

Chou T.H., Ding H.Y., Lin R.J., Ling J.Y., et Liang C.H. 2010. Inhibition of melanogenesis and oxidation by protocatechuic acid from *Origanum vulgare* (Oregano). *Journal of Natural Products*. 73: 1767-1774.

Christophe P., et Christophe S. 2011. Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*. 84 p.

Chun S.K., Vatterm D.A., Lin Y.T., et Shetty K. 2005. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*. 40: 809-816.

Coker C., Poore C.A., Li X., et Mobley H.L. 2000. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection/ Institut Pasteur*. 2 (12): 1497-1505.

Colby S.M., Alonso W.R., Katahira E.J., McGarvey D.J., et Croteau R. 1993. 4S-Limonene Synthase from the Oil Glands of Spearmint (*Mentha spicata*) cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the catalytically active monoterpene cyclase. *Journal of Biological Chemistry*. 268: 23016-23024.

Combrinck S., Du Plooy G.W., McCrindle R.I., et Botha B.M. 2007. Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. 99 (6): 1111-1119.

Cometta A., Baumgartner J.D., Lew D., Zimmerli W., Pittet D., Chopart P., Schaad U., Herter C., Eggimann P., et Huber O. 1994. Prospective randomized comparison of imipenem monotherapy with imipenem plus neltilmicin for treatment of severe infections in nonneutropenic patients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 38(6): 1309-1313.

Conforti F., Marrelli M., Statti G., Menichini F., Uzunov D., Solimene U., et Menichini F. 2012. Comparative chemical composition and antioxidant activity of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *glandulosa* (Req.) Nyman and *Calamintha grandiflora* (L.) Moench (Labiatae). *Natural Product Research*. 26: 91-97.

Cook C.M., Maloupa E., Kokkini S., et Lanaras T. 2007. Differences between the inflorescence, leaf and stem essential oils of wild *Mentha pulegium* plants from Zakynthos Greece. *Journal of Essential oil Research*. 19: 239-244.

Coonrod J.D., Leadley P.J. et Eickhoff T.C. 1971. Qntibiotic susceptibility of *Bacillus* species. *The Journal of Infectious Diseases*. 123. 102-105.

Corre J.J. 1961. Une zone de terrain salé en bordure de l'étang de Mauguio : étude du milieu et de la végétation. *Bull. Serv. Carte phytogéog. Montpellier. Série B.* 6: 105-151.

Corsi G., et Bottega S. 1999. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany.* 84: 657-664.

Cosio M.S., Buratti S., Mannino S., et Benedetti S. 2006. Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the *Labiatae* family. *Food chemistry.* 97: 725-731.

Couic-Marinier F., et Lobstein A. 2013. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques.* 52 (525): 18-21.

Couplan F., et Styner E. 2009. Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques (les guides du Naturaliste). *Delachaux et Niestlé SA. Paris.* 415p.

Croteau R., Felton M., Karp E., et Kjonaas R. 1981. Relationship of camphor biosynthesis to leaf development in sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiology.* 67: 820-824.

D

Dababneh B.F. 2007. Antimicrobial activity and genetic diversity of *Thymus* species on pathogenic microorganisms. *Journal of Food, Agriculture and Environment.* 5: 158-162.

Dalloni, 1952. Géologie des mots de Tessala. *Ed. Sedes. Paris.* 385p.

De Carretto C.F.P., De Navas E.A.F.A., Paradella T.C., De Oliveira L.D., Junqueira J.C., et Jorge A.O.C. 2007. Effects of the thyme infusion on the *in vitro* adherence of *Streptococcus mutans* to tooth and *Candida albicans* to the acrylic resin. *Journal of Oncology of UNESP.* 36: 281-286.

Deaton C.H.M., et Marlin D.J. 2003. Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice.* 2(3): 278-91.

Deba F., Dang Xuan T., Yasuda M., et Tawata S. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control.* 19: 346-352.

Debaisieux F., et Polese J-M. 2009. Plantes médicinales : secrets et remèdes d'autre fois. *Nature pratique. Editions DEBAISIEUX.* 127p.

Delgado M.E., Haza A.I., Arranz N., Garcia A., et Morales P. 2008. Dietary polyphenols protect against N-nitrosamines and benzo (a) pyrene-induced DNA damage (strand breaks and oxidized purines/pyrimidines) in HepG2 human hepatoma cells. *European journal of nutrition.* 47 (8): 479- 490.

Dell B., et McComb A.J. 1978. Plant resins-their formation, secretion and possible functions. *Advances in Botanical Research.* 6: 227-316.

Demirci B., Temel H.E., Portaka T., Kirmızıbekmez H., Demirci F., et Hüsnu Can Başer K. 2011. Inhibitory effect of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* essential oil on lipoxygenase. *Turkish Journal of Biochemistry.* 36: 290-295.

- Deponte M.** 2013. *Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1830 (5): 3217-3266.
- Derwich E., Benziane Z., et Boukir A.** 2010. GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 6(3): 191-198.
- Dhar-mascareno M., Carcamo J.M., et Golde D.W.** 2005. Hypoxiareoxygenation-induced mitochondrial damage and apoptosis in human endothelial cells are inhibited by vitamin C. *Free Radical Biololy and Medecine*. 38: 1311-1322.
- Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F.** 1999. Flavonoids: Old new aspects o a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*. 65: 337-353.
- Diallo A.** 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Thèse de pharmacie. Bamako. 98p.
- Ding H.Y., Chou T.H., et Liang C.H.** 2010. Antioxidant and antimelanogenic properties of rosmarinic acid methyl ester from *Origanum vulgare*. *Food Chemistry*. 123: 254-262.
- Djebaili S.** 1978. Recherches phytoécologiques et phytosociologiques sur la végétation des hautes plaines steppiques et de l'Atlas Saharien Algérien. Thèse de Doctorat. Université Languedoc. Montpellier. 229 p+ Annexes.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi hassani L.M., Badoc A., et Gmira N.** 2003. Screening phytochimique d'une Endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*. 142: 61-78.
- Domenico T., Francesco C., Maria G.S., Vincenza V., Mariateresa C.D., Antonella S., Gabriela M., et Giuseppe B.** 2005. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49: 2474-2478.
- Drobniewski F.A.** 1993. *Bacillus cereus* and related species. *Clinical Microbiology Reviews*. 6(4): 324-338.
- Drouhet E.** 1978. Antifugul agents. *Antibiotics and Chemotherapy*. 25: 253-288.
- Ε
- Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., et Yousefzadi M.** 2008. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. *Food chemistry*. 110: 927-931.
- Ech-chahad A., Farah H., et Bouyazza L.** 2013. Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc. *Afrique SCIENCE* 09 (3): 77-81.
- El Hadrami I., Ramos T., El Bellaj M., El Idrissi T., et Macheix J.J.** 1997. A sinapic derivative as an induced defence compound of date plam against *Fusarium oxysporum* Sp. *albedinis*, the agent causing bayoud disease. *Journal of Phytopathology*. 145: 329-333.
- El-Ghorab A.H.** 2006. The chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plant*. 9: 183-195.

Ellis D. 2002. Amphotericin B: spectrum and resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 49: 7-10.

Eloff J.N. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. 64(8): 711-3.

Epifano F., Genovese S., Menghini L., et Curini M. 2007. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*. 68: 939 - 953.

Essawi T., et Srouf M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journa of ethnopharmacology*. 70: 343-349.

Evans R.J., et Reynhout G.S. 1992. Alternates to synthetic antioxidants. Food Science and human Nutrition. 29: 27-42.

7

Fahn A. 2000. Structures an functions of secretory cells. *Advances in Botanical Research*. 31: 37-75.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., et Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*. 331: 372-379.

Farmer J.J., Boatwright K.D., et Janda J.M. 2007. *Enterobacteriaceae*: Introduction and Identification. In Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Landry M.L., et Pfaller M.A. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 649-669). Washington, DC: ASM press.

Farooqi A.H.A., Sangwan N.S., et Sangwan R.S. 1999. Effect of different photoperiodic regimes on growth, flowering and essential oil in *Mentha* species. *Plant Growth Regul.* 29: 181-187.

Favier A. 2003. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. 108-115.

Fecka I., et Turek S. 2008. Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from *Lamiaceae*: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. *Food Chemistry*. 108: 1039-1053.

Ferka Zazou N. 2006. Impact de l'occupation spatio- temporelle des espaces sur la conservation de l'écosystème forestier : Cas de la commune de Tessala, wilaya de Sidi Bel Abbés, Algérie. Mémoire de Magister. Université Tlemcen. 154p.

Fernandez M. 2003. Quelques plantes médicinales et leurs fonctions. Ed. Aenigma, 63p.

Flamini G., Cioni P.L., Puleio R., Morelli I., et Panizzi L. 1999. Antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* and its constituent pulegone against bacteria and fungi. *Phytotherapy Research*. 13: 349-351.

Fleuriet A., Jay-Allemand C., et Macheix J.J. 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*. pp 121-216.

Fong H.H.S., Tin W.A.M., et Farnsworth N. 1977. Phytochemical screening review. Chicago: University of Illinois. 73-126.

Franchomme P., Pénoël D., et Jollois R. 1990. L'aromathérapie exactement- Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Editions Jollois. 445p.

Francisco A., Tomas-Barber N., Syed Z-H., et Maria I-G. 1988. The Distribution of Methylated Flavones in the *Lamiaceae*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 16: 43-46.

Frankel E.N. 1996. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*. 57: 51-55.

Frankel E.N., et Meyer A.S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of science of food and agriculture*. 80: 1925-1941.

Franz R., Kelly S.L., Lamb D.C., Kelly E.Ruhnke M., et Morsschhauser J. 1998. Multiple molecular mechanisms contribute to a stepwise development of fluconazole resistance in clinical *Candida albicans* strains. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 42(12): 3065-3072.

Fraternali D., Giamperi L., Ricci D., et Manuta A. 1998. Composition of essential oil as taxonomic Marker for *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *nepeta*. *J. of Essential Oil Research*. 10: 568-570.

Frei B., England L., et Ames B.N. 1989. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A.* 86 (16): 6377-6381.

Fuorucci S. 2006. Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université de Nice Sophia Antipolis.

G

Gamisans J., et Jeanmonod D. 1993. Catalogue des plantes vasculaires de la Corse (seconde édition). Edition des conservatoires et jardins botaniques de la ville de Genève, Chambésy. 258p.

Garcia-Plazaola J.I., et Becerril J.M. 1999. A rapid HPLC method to measure lipophilic antioxidants in stressed plants: simultaneous determination of carotenoids and tocopherols. *Phytochemical Analysis*. 10: 307-313.

Gazengel J.M., et Orecchioni A.M. 2013. Le préparateur en pharmacie. 2ème édition. Ed. Lavoisier. Paris.

Gee J.M., et Johnson I.T. 2001. Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health (01-182). *Current Medicinal Chemistry*. 8: 11.

George S.C. 1995. Coumarin. *Perfumer & Flavorist*. 20: 23-34.

Gérard-Monnier D., et Chaudière J. 1996. Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *Pathologie Biologie*. 44: 77-85.

Gershenzon J., McConkey M.E., et Croteau R.B. 2000. Regulation of Monoterpene Accumulation in Leaves of Peppermint. *Plant Physiology*. 122(1): 205-214.

- Geursen R., Heer P., Kirkness B., Loewenstein P., Mees S., Muschart J.M., et Pickaert M.** 2008. Mycoses. Des médicaments au service de l'humanité: 1-3.
- Gherib A.** 1983. Chimie Thérapeutique. Office de Publication Universitaire. Alger. 1.
- Gherida K.** 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutiques. *Phytothérapie*. 4: 162-169.
- Goldstein J.L., et Brown M.S.** 1990. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*. 343: 425-430.
- Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A., et Fernandez-Gutierrez A.** 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1220-1234.
- Gordon M., Cragg G.M., Newman D.J., et Snader K.M.** 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*. 60: 52-60.
- Gören A.C., Topçu G., Bilsel G., Bilsel M., Wilkinson J.M., et Cavanagh Heather M.A.** 2004. Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation thermal desorber and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural Product Research*. 18 (2): 189-195.
- Grimont P.** 1987. Taxonomie des Escherichia. Médecine et Maladies Infectieuses. 6-10.
- Guessous H.** 2013. La phytothérapie dans le traitement des parodontopathies au Maroc : « enquête épidémiologique ». Thèse en Médecine Dentaire. Faculté de Médecine Dentaire, Rabat.
- Guggenbühl N.** 2003. Les polyphénols sont à la fête (en ligne): <http://www.healthandfood.be/html/fr/article/62/polyphenol.htm>
- Guignard J.L.** 1996. Abrégé de biochimie végétale. Ed. Masson. Paris. 160p.
- Guillén M.D., et Manzanos M.J.** 1998. Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus Vulgaris* L. plant. *Food chemistry*. 63 (3): 373-383.
- Gułcin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A., et Elias R.** 2003. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Medica*. 70: 561-563.
- Guo I., Wang S., Zhang J., Yang G., Zhao M., Ma W., Zhang X., Li X., Han B., Chen N., et Huang L.** 2013. Effects of ecological factors on secondary metabolites and inorganic elements of *Scutellaria baicalensis* and analysis of geoherbism. *Life Sciences*. 56(11): 1047-1056.
- Guo L., Xie M.Y., Yan A.P., Wan Y.Q., et Wu Y.M.** 2006. Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 386(6): 1881-1887.
- Gürbüz I., Ustun O., Yesilada E., Sezik E., et Kutsal O.** 2003. Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal. Ethnopharmacology*. 88, 93-97.
- Gurib-Fakim A.** 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27: 1-93.

#

- Hadi M.** 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres : Etudes et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur.
- Hadouche Y.A.** 2000. Traitement des affections bucco-dentaires par les plantes médicinales marocaines. Thèse en Médecine Dentaire. Faculté de Médecine Dentaire. Rabat.
- Hajarolasvadi N., Zamani M.J., Sarkhail P., Khorasani R., Mohajer M., Amin G., Shafiee A., Sharifzadeh M., et Abdollahi M.** 2006. Comparison of antinociceptive effects of total, water, ethyl acetate, ether and n-butanol extracts of *Phlomis anisodonta* Boiss. and indomethacin in mice. *International Journal of Pharmacology*. 2: 209-212.
- Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., et Bakhrouf A.** 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25: 2227-2238.
- Hallahan D.L.** 2000. Monoterpenoid biosynthesis in glandular trichomes of Labiatae plants. In: *Plant Trichomes*. Hallahan D.L., et Gray J.C. *Adv. Botan. Research*. Academic Press, New York, London. 145 p.
- Halliwell B.** 1995. Antioxydant characterisation. *Methodology and mechanism*. 49: 1341-1348.
- Haraguchi H., Saito T., Ishikawa H., Date H., Kataoka S., Tamura Y., et Mizutani K.** 1996. Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. *Planta Medica*. 62 (3): 217-221.
- Harbone J.B.** 1967. Comparative biochemistry of the flavonoides. *Academic press. New York*. pp 1-130.
- Harbone J.B., et Grayer R.J.** 1988. The flavonoids, *Advances. Research science*: 1-20.
- Hartmann T.** 2007. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68: 2831-2846.
- Hazen K.C., et Howell S.A.** 2007. *Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance*. In Murray P.R. (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. pp. 1762-1788. Washington D.C.: *ASM Press*.
- Hazzit M., Baaliouamer A., Verissimo A.R., Faleiro M.L. et Miguel M.G.** 2009. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*. 116: 714-721.
- Hersch-Martínez P., Leños-Miranda B.E., et Solórzano-Santos F.** 2005. Antibacterial effects of commercial essential oils over locally prevalent pathogenic strains in Mexico. *Fitoterapia*. 76: 453-457.
- Hmamouchi M.** 1999. Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. *Editions Fedala, Mohammedia*.
- Hmamouchi M.** 2001. Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. 2^{ème}. Ed. 389 p.
- Hogg S.** 2005. *Essential Microbiology*. *John Wiley & Sons Ltd. Chichester. West Sussex. UK*.

Horikawa M., Nora T., et Kamei Y. 1999. *In vitro* antimethicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity found in extract of marine algae in digenous to the costline of Japan. *The Journal of antibiotics*. 52: 186-189.

Huang L.Q., et Guo L.P. 2007. Effects of accumulation of secondary metabolites on formation of genuine medicinal materials under environmental press. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 32: 277-280.

Hubert A.J. 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en Nutrition et santé humaine. Thèse de Doctorat en qualité et sécurité des aliments de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. France. 174p.

Hudaib M., Speroni E., Pietra A.M.D., et Carvin V. 2002. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 29: 691-700.

¶

Ietswaart J.H. 1980. A Taxonomic Revision of the Genus *Origanum* (*Labia-tae*). *Leiden Botanical Series*. Vol. 4. *Leiden University Press, The Hague, Leiden*.

Ismaili H., Tortora S., Sosa S., Fkih-Tetouani S., Ildrissi A., Della Loggia R., Tubaro A., et Aquino R. 2001. Topical anti-inflammatory activity of *Thymus willdenowii*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 53: 1645-1652.

¶

Jacob C., Giles G.I., Giles N.M., et Sies H. 2003. Sulfur and selenium: the role of oxidation state in protein structure and function. *Angewandte Chemie International Edition in English*. 42: 4742- 4758.

Jean- Blain C. 1998. Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 149: 911-920.

Jonsson O., Lindgard A., Foe A., Gondalia J., Aneman A., et Soussi B. 2003. Enhanced post-ischemic recovery in rabbit kidney after pretreatment with an indeno-indol compound and ascorbate monitored in vivo by 31P magnetic resonance spectroscopy. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 37: 450-455.

Jordan F.T.W., et Pattison M. 1996. Poultry Diseases. 4th edition. *London. GB. W. B. Saunders Company*. 546p.

Jordán M.J., Martínez R.M., Goodner K.L., Baldwin E.A., et Stomayor J.A. 2006. Seasonl Variation of *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and products*. 24: 253-263.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., et Stevens P. 2002. Botanique systématique: une perspective phylogénétique. *De Boeck université*. 467p.

Jutiviboonsuk A., Zhang H., Tan T.G., Ma C., Van Hung N., Cuong N.M., Bunyapraphatsara N., Soejarto D.D., et Fong H.H.S. 2005. Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry*. 66: 2745-2751.

Z

Kabir M. A., Hussain M. A., et Ahmad Z. 2012. *Candida albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *ISRN Microbiology*. 2012: 538694.

Kabouche A., Kabouche Z., Seguin E., Tillequin F., et Bruneau C. 2005. A phenylethanoid glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Cav.) (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 33 : 813-816.

Kaloustian J., El-Moselhy T.F., et Portugal H. 2003. Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Thermochimica Acta - Journal - Elsevier*. 401: 7786.

Kamkar A., Javan A.J., Asadi F., et Kamalinejad M. 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 1796-1800.

Kansole M.M.R. 2009. Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques Lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Lauca martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppsita* Vahl et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire d'Études Approfondies en Sciences Biologiques Appliquées. Université de Ouagadougou. 54 p.

Karami-Osboo R., Khodaverdi M., et Ali-Akbari F. 2010. Antibacterial effect of effective compounds of *Satureja hortensis* and *Thymus vulgaris* essential oils against *Erwinia amylovora*. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 12: 35-45.

Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B., Lachaâl M., et Smaoui A. 2009. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*. 30: 338-343.

Katalinić V., Miloš M., Kulisić T., et Jukić M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*. 94:550-557.

Katarzyna U., Anna M., Marta M., Joanna J.B., et Grzegorz W. 2007. Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*. 62 (2): 132-135.

Kaya A., Demirci B., et Baser K.H.C. 2003. Glandular trichomes and essential oils of *Salvia glutinosa* L. *South African Journal of Botany*. 69: 422-427.

Khaled khoudja N., Boulekbache- Makhlof L., et Madani K. 2014. Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian Lamiaceae. *Industrial Crops and Products*. 52: 177-182.

Khan A., Bashir S., Khan S.R., et Gilani A.H. 2011. Antiuro lithic activity of *Origanum vulgare* is mediated through multiple pathways. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.

Kholkhal F., Lazouni H.A., Bendahou M., Boublenza I., Chabane S.D. et Chaouch T. 2013. Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *Coloratus*. *Afrique SCIENCE*. 09 (1): 151-158.

Kieser T., Bibb M.J., Buttner M.J., Chater K.F., et Hopwood D.A. 2000. Practical *Streptomyces* Genetics. *The John Innes Foundation, Norwich, UK*: 613.

Kikuzani H., et Nakatani N. 1989. Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agricultural and Biological Chemistry*. 53: 519-524.

Kintzios S.E. 2002. Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia* (medicinal and aromatic plants-industrial profiles). *New York: CRC Press*.

Kiouba J. 2003. Usage des antibiotiques en milieu hospitalisé. Thèse, pharm. Université de Bamako. 72p.

Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., et Satoh M. 2004. Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65 : 3279-3287.

Kitic D., Jovanovic T., Ristic M., Palic R., et Stojanovic G. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *glandulosa* (Req.) P.W. Ball from Montenegro. *Journal of Essential Oil Research*. 14: 150-152.

Kofidis G., Bosabalidis A.M., et Moustakas M. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany*. 92: 635-645.

Kolalite M.R. 1998. Comparative analysis of ultrastructure of glandular trichomes in two *Nepeta cataria* chemotypes (*N. cataria* et *N. cataria* var. *citriodora*). *Nord. J. Botany*. 18: 589-598.

Koleva I., Niederländer H.A.G., et Van Beek T.A. 2000. An on-line HPLC method for detection of radical scavenging compounds in complex mixtures. *Analytical Chemistry*. 72: 2323-2328.

Kon K., et Rai M. 2012. Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with other essential oils. *Bioscience*. 4: 50-56.

Krauss J., Stephane-Dewenter I., et Tschardt T. 2003. Plant and soil. 256p.

Krstic L., Malencic D., et Anackov G. 2006. Structural investigations of trichomes and essential oil composition of *Salvia verticillata*. *Botanica Helvetica*. 116: 159-168.

Kulišić T., Dragović-Uzelac V., et Miloš M. 2006. Antioxydant activity of aqueous tea infusions prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technology and Biotechnology*. 44(4): 485-492.

Kumaran A., et Joel Karunakaran R. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*. 40: 344-352.

Kupper H., Lombi E., Zhao F.J., et McGrath S.P. 2000. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Planta*. 212: 75-84.

Kurşat M., Emre I., Yilmaz Ö., et Erecevit P. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity in the seeds of *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* (C. Koch) letsvaart and *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) letsvaart from Turkey. *Grasas y Aceites*. 62: 410-417.

∟

- Labayle D. 2001. *Guide Pharmaco. Édition lamare. Paris.* 568p.
- Lagouri V., et Boskou D. 1996. Nutrient antioxidants in oregano. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 47: 493-497.
- Lahlah F.Z. 2008. Extraction des flavonoïdes par le butanol, chloroforme à partir de *Silybum marianum*, et étude de leurs activités antibactériennes. Thèse de magister. Université de Constantine.
- Lahlou M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research.* 18: 435-448.
- Lamaison J.L., et Petitjeanfreytet C. 1996. Medicinal *Lamiaceae* with antioxidant activity, potential sources of rosmarinic acid. *Pharmaceutica Acta Helvetiae.* 66: 185-188.
- Lamaison J.L., Pettitjean-Freytet C., et Carnat A. 1990. Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activité antioxydante chez les Apiacées, les Borraginacées et les Lamiacées médicinales. *Annales Pharmaceutiques Françaises.* 48: 103-108.
- Lamendin H. 2007. Soignez votre bouche par les plantes : remède d'hier et aujourd'hui. 5^{ème} Ed. *L'Harmattan. Paris.* p34.
- Lardry J.M., et Haberkorn V. 2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev.* 61: 7-14.
- Läuchli A. 1993. Selenium in Plants: Uptake, Functions, and Environmental Toxicity. *Botanica Acta.* 106: 455.
- Le Scanff J., Mohammedi I., Thiebaut A., Martin O., Argaud L. et Robert D. 2006. Necrotizing gastritis due to *Bacillus cereus* in an immunocompromised patient. *Infection,* 34(2): 98-99.
- Lemhadri A., Zeggwagh N.A., Maghrani M., Jouad H., et Eddouks M. 2004. Antihyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region. *Journal of Ethnopharmacology.* 92: 251-256.
- Lepoivre P. 2003. *Phytopathologie. Ed De Boeck université.* 154p.
- Li J.W., Ding S.D., et Ding X.L. 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry.* 40: 3607-3613.
- Liang C.H., Chan L.P., Ding H.Y., So E.C., Lin R.J., Wang H.M., Chen Y.G., Chou T.H. 2012. Free radical scavenging activity of 4-(3,4-Dihydroxybenzoyloxymethyl)phenyl-O-b-D-glucopyranoside from *Origanum vulgare* and its protection against oxidative damage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 60: 7690-7696.
- Ličina B.Z., Stefanović O.D., Vasić S.M., Radojević I.D., Dekić M.S., et Čomić L.R. 2013. Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food Control.* 33: 498-504.
- Liebermann N.C. 1885. *Über das Oxychinoterpen. Ber.* 18: 1803.
- Limem-Ben Amor I., Neffati A., Ben Sgaier M., Bhouri W., Boubaker J., Skandrani I., Bouhlef I., Kilani S., Ben Ammar R., Chraief I., Hammami M., Ghoul M., Chekir-

Ghedira L., et Ghedira K. 2008. Antimicrobial Activity of Essential Oils Isolated from *Phlomis crinita* Cav. ssp. *mauritanica* Munby. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 85:845-849.

Limem-Ben Amor I., Neffati A., Ben Sgaier M., Bhourri W., Boubaker J., Skandrani I., Bouhlel I., Kilani S., Ben Ammar R., Chraief I., Hammami M., Ghoul M., Chekir-Ghedira L., et Ghedira K. 2009. Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *Journal of Ethnopharmacology* 125: 183-202.

Lin J.K., et Weng M.S. 2006. Flavonoids as Nutraceuticals. In Grotewold E. (Eds.). The science of flavonoids. *New York. Springer Edition*. pp 213-238.

List P. H., Hörhammer L., Roth H. J., et Schmid W. 1980. Hagers Hundbuch der Pharmazeutischen Praxis, 4. Aufl., Bde. Ibis VIII, Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Liu H.B., Zheng A.M., Liu H.L., Yu H.Y., Wu X.Y., Xiao C.N., Dai H., Hao F.H., Zhang L.M., Wang Y.L., et Tang H.R. 2012. Identification of three novel polyphenolic compounds, Origanine A-C, with unique skeleton from *Origanum vulgare* L. using the hyphenated LC-DAD-SPENMR/ MS methods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 60:129-135.

Logan N.A., et Rodrigez-Diaz M. 2006. Bacillus spp. and Related Genera. In Gillespie S.H., et Hawkey P.M. (Eds.). Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2nd ed. pp. 139-158. *West Sussex, England, UK: John Wiley and Sons Ltd.*

López-Martínez R. 2010. Candidosis, a new challenge. *Clinics in Dermatology*. 28 (2): 178-184.

Lopez-ribo J.L., Mc Atee R.K., Perea S., Kirkpatrick W.R., Rinaldi M.G., et Patterson T.F. 1999. Multiple resistant phenotypes of *Candida albicans* coexist during episodes of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 43: 1621-1630.

Lorenzo D., Paz D., Dellacassa E., Davies P., Vila R., et Caniguera L. 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *M. rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 45: 519-524.

Lorrain E. 2013. 100 questions sur la phytothérapie. *Ed. La boétie. Italie.*

Loziene K., Venskutonis P.R., Sipailienė A., et Labokas J. 2007. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chemistry*. 103: 546-559.

Loziene K., Vauciunine J. et Venskutonis P. 1998. Chemical composition of the essential oil of creeping thyme (*Thymus serpyllum* L.) growing wild in Lithuania. *Planta Medica*, 64: 772-773.

M

Madigan M.T., et Martinko J.M. 2007. Biologie des microorganismes. *Pearson Education France*. 11^e édition: 331-423, 686-718.

Maffei M., Chialva E., et Sacco T. 1989. Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. Variation of peltate number and terpene distribution within leaves. *New Phytologist*. 11: 707-716.

- Maffei M., Gallino M., et Sacco T.** 1986. Glandular trichomes and essential oils of developing leaves in *Mentha viridis lavanduliodora*. *Planta Medica*. 52: 187-193.
- Mahboubi M., et Haghi G.** 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 119: 325-327.
- Maisuthisakul P., Pasuk S., et Ritthiruangdej P.** 2008. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J. Food Composition and Analysis*. 21: 229-240.
- Makkar H.P., et Becker K.** 1998. Do tannins in leaves of trees and shrubs from African and Himalayan regions differ in level and activity? *Agroforestry Systems*. 40: 59-68.
- Maleci Bini L., et Servettaz O.** 1991. Morphology and distribution of trichomes in Italian species of *Teucrium* sect. *Chamaedrys* (Labiatae); a taxonomical evaluation. *Plant Systematics and Evolution*. 174: 83-91.
- Maleci Bini L., Gentili L., Tirillini B., et Pellegrino R.** 2000. Secretion constituents of leaf glandular Trichomes of *Ocimum basilicum* L. In: *Flavour and Fragrance Chemistry*. Lanzotti V., et Tagliatela O. Scafati (eds). Kluwer A.P., Dordrecht. 4 : 232-241.
- Maleci Bini L., Pinetti A., et Servattaz O.** 1992. Micromorphological and phytochemical researches on *Teucrium massiliense* L. In: *Advances in Labiatae Science*. Harley R.M., et Reynolds T. (eds.). *Royal Botanic Gardens, Kew*. 345-355.
- Maleci Bini L., Tirillini B., Gentili L., Pinetti A., Tani G., et Servettaz O.** 1997. Observations on glandular trichomes and essential oil in *Rosmarinus officinalis* L. In: *Essential oils: basic and applied research*. Mathé C.F.A., et Buchbauer G. (eds). Proceedings of the 27th International Symposium on Essential Oils.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., et Jiménez L.** 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur N.A., Echard B.W., Bagchi D., et Preuss H.G.** 2001. Antifungal activities of *Origanum* oil against *Candida albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 228: 111-117.
- Marfak A.** 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges.
- Marin M., Koko V., Duletić-Lausević S., et Marin P.D.** 2008. Micromorphology of trichomes of *Thymus malyi* (Lamiaceae). *Journal of Microscopy*. 232(3): 406-409.
- Marinelli F.** 2009. Antibiotics and *Streptomyces*: the futur and antibiotic discovery. *Microbiology today*. 2: 20-23.
- Markham K.R.** 1982. Techniques of flavonoid identification. *Academic Press. London*. 133p.
- Martin C., et Glover B.J.** 2007. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. *Current Opinion in Plant Biology*. 10: 70-82.
- Martins M.B.G.** 2002. Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de verredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata* × *suaveolens* (Lamiaceae). *Bragantia. Campinas*. 61: 205-218.

- Martins N., Barros L., Santos-Buelga C., Henriques M., Silva S., et Ferreira I.C.F.R.** 2014. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. *Food Chemistry*. 158: 73-80.
- Martins N., Barros L., Santos-Buelga C., Silva S., Henriques M., et Ferreira I.C.F.R.** 2015. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterization. *Food Chemistry*. 167: 131-137.
- Mates J.M.** 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*. 153(1-3): 83-104.
- Mathiesen C., Scheen A-C., et Lindqvist C.** 2011. Phylogeny and biogeography of the lamioid genus *phlomis* (*Lamiaceae*). *KEW BULLETIN*. 66: 83-99.
- Matissek R. et Wittkowski R.** 1992. High performance liquid chromatography in food control and research, Behr's Verlag, Huamburg.
- Mc Allister T.A., Bae H.D., Muir A.D., Jones G.A., Yanke L.J., et Cheng K.J.** 1994. Correlations between the chemical properties of condensed tannins isolated from various plants and their effects on the digestion of filter paper by fibrobacter succinogenes. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*. 159p.
- Mc Kenzi B.E., et Peterson C.A.** 1995. Root browning in *Pinus banksiana* Lamb. and *Eucalyptus pilularis* Sm. Anatomy and permeability of the white and tannins zones. *Botabica Acta*. 108: 127-137.
- Mendiratta D.K., Rawat V., Thamke D., Chaturvedi P., Chhadra S., et Narang P.** 2006. *Candida* colonization in preterm babies admitted to neonatal intensive care unit in the rural setting. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 24: 263-267.
- Meyer S., Reeb C., et Bosdeveix R.** 2008. Botanique: Biologie et physiologie végétales. 2^{ème} édition. MALOINE.
- Middleton E.J., Kandaswami C., et Theoharides T.C.** 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacology Review*. 52(4): 673-751.
- Mihajilov-Krstev T., Radnović D., Kitić D., Zlatković B., Ristić M., et Branković S.** 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil. *Central European Journal of Biology*. 4(3): 411-416.
- Mikus B., et Zobel I.** 1996. A comparative study of lemon scented thyme species. *Drogenreport*. 9 (15): 10-15.
- Miliauskas G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A.** 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*. 85: 231-237.
- Mkaddem M., Bousaid M., et Ben Fadhel N.** 2007. Variability of volatiles in Tunisian *Mentha pulegium* L. (*Lamiaceae*). *Journal of Essential Oil Research*. 19: 211-215.
- Moh Rejdali F.L.S.** 1991. Leaf micromorphology and taxonomy of North African species of *Sideritis* L. (*Lamiaceae*). *Botanical Journal of the Linnean. Society*. 107: 67-77.

Mole S., et Waterman P.G. 1987. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. II. Techniques for biochemically defining tannins. *Ecologia*. 72: 148-156.

Mols M., De Been M., Zwietering M.H., Moezelaar R., et Abee T. 2007. Metabolic capacity of *Bacillus cereus* strains ATCC 14579 and ATCC 10987 interlinked with comparative genomics. *Environmental Microbiology*. 9: 2933-2944.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of science technology*. 26(2): 211-219.

Moreira M.R., Ponce A.G., Del Valle C.E., et Roura S.I. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*. 38: 565-570.

Morteza-Semnani K., et Saeedi M. 2005. The essential oil composition of *Phlomis bruguieri* Desf. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*. 20: 344-346.

Mossaddak B. 1995. Investigation du polymorphisme chimique via la caractérisation chimiotaxinomique des menthes cultivées au Maroc, Thèse de DES en sciences physiques, spécialité chimie organique, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat.

Moussaid M., Elamrani A., Berhal C., Moussaid H., Bourhim N., et Benaissa M. 2012. Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the *Lamiaceae* family: *Marrubium vulgare* (L.) and *Origanum majorana* (L.). *International Journal of Natural Products Research*. 1(1): 11-13.

Muller-Harvey I., et Mc Allan A.B. 1992. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Advances in Plant Cellular Biochemistry and Biotechnology*. 1: 151-217.

Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Landry M.L., et Pfaller M.A. 2007. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. American Society of Microbiology Press.

∞

Nabors M. 2009. Biologie végétale: structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies. *Nouveaux horizons*. Pearson education France. Paris. 614p.

Nagendran B., Kalyana S., et Samir S. 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. 99: 191-203.

Nakiboglu M., Urek R.O., Kayali H.A., et Tarhan L. 2007. Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chemistry*. 104: 630-635.

Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R., et Krishina D.R. 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*. 33: 2-16.

Nataro J.P., Bopp C.A., Fields P.I., Kaper J.B., et Strockbine N. A. 2007. *Escherichia, Shigella* and *Salmonella*. In Murray P.R., Baron E. J., Jorgensen J.H., Landry M.L., et Pfaller M.A. (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed. pp. 670-687). Washington, DC, USA: ASM press.

Nauciel C. 2000. Bactériologie médicale. Edition : Masson. Paris. 276p.

Navarro-Alarcon M., et Lopez-Martinez M.C. 2000. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Science of the Total Environment*. 249(1-3): 347-71.

Neuman M. 1979. Vade-Mecum des antibiotiques et agents chimiothérapeutiques Anti-infectieux. Maloine S. A. Éditeur. 4^{ème} ed.

Nguyen M.T., Kryachko E.S., et Vanquickenborne L.G. 2003. General and theoretical aspects of phenols. In: Rappoport Z (ed) The Chemistry of Phenols. *John Wiley et Sons Ltd, Chichester, West Sussex, UK*. 1-198.

Niare A. 2005. Etude de la phytochimie et des activités pharmacologiques de *Syzygium guineense* Willd. (*Myrtaceae*). Thèse Doct. Univ. BAMAKO. 114p.

Nikaido H., et Vaara M. 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological Review*. 49: 1-32.

Nikolić M., Glamočlija J., Ferreira I.C.F.R., Calheta R.C., Fernandes Â., Marković T., Marković D., Giwelie A., et Soković M. 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*. 52: 183- 190.

Nishizawa A., Honda G., Kobayashi Y., et Tabata M. 1992. Genetic control of peltate glandular trichome formation in *Perilla frutescens*. *Planta Medica*. 58: 188-191.

Nogaret-Ehrhart A.S. 2008. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles. Paris.

Norio K., Wikstrom M., Salmela K., Kyllonen L., et Lindgren L. 2003. Ascorbic acid against reperfusion injury in human renal transplantation. *Transplant International*. 16: 578-583.

Norman J. 1998. Klassische Kräuterküche, AT Verlag, Aurau/Schweiz.

Norton B.W. 1999. The significance of tannins in tropical animal production. In: Tannins in livestock and human nutrition, ACIAR (Australian Centre of the International Agricultural Research proceedings. Edition: Brooker. Adelaide, Australia. 92: 14-23.

Nougarède A. 1969. Biologie végétale. Tome I. Cytologie. Ed. Masson.. 598p.

0

O.N.M. 2015. Organisation Nationale de Météorologie. Recueil des données climatiques de la wilaya de Sidi Bel Abbés.

Oszagyan M., Simandi B. et Sawinsky J. 1996. A Comparison Between the Oil and Supercritical Carbon Dioxide Extract of Hungarian Wild Thyme (*Thymus serpyllum* L.). *Journal of Essential Oil Research*. 8: 333-335.

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., et Lacroix M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18: 414-420.

Özcan M., et Chalchat J.C. 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. Journal of Plant Physiology*. 30 (4): 68-73.

P

Padrini F., et Lucheron M.T. 1996. Le grand livre des huiles essentielles. Guide pratique pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et l'aramassage énergétique avec plus de 100 photographies. *Ed. De Vecchi*. p 15.

Panizzi L., Flamini G., Cioni P.L., et Mordu I. 1993. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediterranean *Lamiaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*. 39: 167-170.

Papazian L., et Roch A. 2008. Le syndrome de détresse respiratoire aiguë. *Edition Springer*. 153 p.

Park H.H., Lee S., Son H.Y., Park S.B., Kim M.S., Choi E.J., Singh T.S., Ha J.H., Lee M.G., Kim J.E., Hyun M.C., Kwon T.K., Kim Y.H., et Kim S.H. 2008. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of pharmacal research*. 31 (10): 1303- 1311.

Péchère J.C., et Vladoianu I.R. 1992. Development of resistance during ceftazidime and cefepime therapy in a murine peritonitis model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 29: 563-573.

Pelikan W. 2003. L'homme et les plantes médicinales. Tome 2. *Triades paris*. 284 p.

Perez romero J. 2014. Biologie et géologie : Notes et activités.

Perrin A., et Colson M. 1986. L'appareil sécréteur des lavandes et des lavandins. Parfums, cosmétiques, arômes: 61-63.

Perrucci S., Mancianti F., Cioni P.L, Flamini G., Morelli I., et Macchioni G. 1994. In vitro antifungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporiumcanis* and *Microsporiumgypseum*. *Planta Medica*. 60: 184-187.

Pichersky E., et Gang D.R. 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science*. 5(10): 439-445.

Pietta P.G. 2000. Flavonoids as antioxydants. *Journal of natural products*. 63: 1035-1042.

Piquemal G. 2008. Les flavonoides (en ligne): http://www.detoursante.com/index.php?option=com_content&view=article&id=166:les-flavonoides&catid=41:phyto-aromathérapie&Itemid=215.

Pirbalouti A.G., Hashemi M., et Ghahfarokhic F.T. 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*. 48: 43-48.

Podsdek A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Food Science and Technology*. 40:1-11.

Poletti A. 1988. Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. *Delachaux & Nistlé S. A. Suisse*. Pp: 103 et 131.

Pottier-Alapetite G. 1976. Flore de la Tunisie, *Imprimerie officielle de la république Tunisienne, Tunis*, 789 p.

Prescott L.M., Harley J.P., et Klein D.A. 2007. Microbiologie. De Boek & Larcier. Bruxelles. 805-825.

Price M.L., Vanscyoc S., et Butler G. 1978. Article evaluation of vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Agriculture and Food Chemistry*. 26: 1210 -1218.

Prior R.L., et Cao G. 1999. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*. 27: 1173-1181.

Proestos C., Lytoudi K., et Mavromelanidou O.K. 2013. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants*. 2: 11-22.

2

Quatresous N. 2011. Aspergillose humaine. épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle. Thèse de doctorat en pharmacie. 136p.

Quezel P., et Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Ed Centre National de la recherche scientifique*.

2

Rahmat A., Kumar V., Fong L.M., Endrini S., et Sani H.A. 2003. Determition of total antioxidant activity in three types of local vegetables shoots and the cytotoxic effect of their ethanolic extracts against different cancer cell lines. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 12: 308-311.

Ramarathnam N., Osawa T., Ochi H., et Kawakishi S. 1995. The contibution of plant food antioxidants to human health. *Trends Food Science and Technology*. 6: 75-82.

Rapisarda A., Galati E.M., Tzakou O., Flores M., et Miceli N., 2001. *Nepeta sibthorpii* Benth. (Lamiaceae): micromorphological analysis of leaves and flowers. *II Farmaco*. 56: 413-415.

Rasooli I., et Mirmostafa S.A. 2002. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential Oils. *Fitoterapia*. 73: 244-250.

Rathod V.S., Raut J.S., et Karuppayil S.M. 2012. *In vitro* antifungal susceptibilty reveals occurrence of azole resistance among clinical isolates of *Candida albicans*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 5(3): 170-173.

Ratnam V.D., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., et Kumar R.M.N.V. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. 113(3): 189-207.

Raven P.H., Evert R.F., et Eichhorn S.E. 2008. Biologie végétale. 2^e édition. De Boek. 733p.

Ravi K., Ramachandran B., et Subramanian S. 2004. Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences*. 75: 2717-2731.

Ray C.G. 2004. Enteric Infections and Food Poisoning. In Ryan K.J., et Ray C.G. (Eds.). Sherris Medical Microbiology. 4th ed. pp. 857-865. USA: Mcgraw Hill.

Regnault-Roger C., Ribodeau M., Hamraoui A., Bateau I., Blanchard P., Gil-Munoz M.I., et Barberan F.T. 2004. Polyphenolic compounds of Mediterranean *Lamiaceae* and investigation

of orientational effects on *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*. 40: 395-408.

Rhayour K. 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. 170p.

Richardson H.H. 1943. The action of bean leaves against the bedbug. *Journal of Economic Entomology*. 36: 543-545.

Ristorcelli D., Tomi F., et Casanova J. 1996. Essential oils of *Calamintha nepeta* subsp. *nepeta* and subsp. *glandulosa* from Corsica (France). *J of Essential Oil Research*. 8: 363-366.

Rodrigues L.S., Monteiro P., Póvoa O., Teixeira G., Vasconcelos T., Moldão M., et Monteiro A. 2006. Biodiversity studies on Portuguese *Thymbra capitata*. *Acta Horticulturae*. 723: 127-132.

Roginsky V., et Lissi E.A. 2005. Review of method to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92: 235-254.

Rolland Y. 2004. Actualités des lipides en cosmétique. *Antioxydants naturels végétaux. OCL*. 11(6): 419-424.

Rollinger J.M., Haupt S., Stuppner H., et Langer T.J. 2004. Combining ethnopharmacology and virtual screening for lead structure discovery: COX-inhibitors as application example. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 44: 480-488.

Rosovitz M.J., Voskuil M.I., et Chambliss G.H. 1998. *Bacillus*. In Collier L., Balows A., Sussman M., Balows A., et Duerden B.I. (Eds.). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infection: Systematic Bacteriology. 9th ed. pp. 709-729. USA: Arnold.

Ruberto G., et Baratta M.T. 2000 Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*. 69: 167-174.

Ryan K.J. 2004. *Candida*, *Aspergillus*, and Other Opportunistic Fungi. In Ryan K.J., et Ray C.G. (Ed.) *Sherris Medical Microbiology*. 4th ed. pp. 659-668. USA: McGraw-Hill.

Ryder N.S., Wagner S., et Leitner I. 1998. *In vitro* activities of terbinafine against cutaneous isolates of *Candida albicans* and other pathogenic yeasts. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 42: 1057-1061.

S

Saeed S., et Tariq P. 2009. Antibacterial activity of oregano (*Origanum vulgare* Linn.) against gram positive bacteria. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*. 22: 421-424.

Sagdic O., et Ozcan M. 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control Elsevier*. 14: 141-143.

Şahin F., Güllüce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G., et Özer H. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 15: 549- 57.

- Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y., et Fujisawa S. 2005. Molecular requirements of lignin-carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*. 66: 2108-2120.
- Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J., et Raskin I. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology*. 109: 1427-1433.
- Samarth R.M., Panwar M., Kumar M., Soni A., Kumar M. et Kumar A. 2008. Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract. *Food Chemistry*. 106: 868-873.
- Sanchez-Moreno C, Larrauri J.A. et Saura-Calixto F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of Science and Technology International*. 8: 121-137.
- Sanchez-Moreno C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.
- Santos D.A., et Hamdan J.S. 2005. Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Trichophyton rubrum*. 43(4): 1917-1920.
- Sarac N., et Ugur A. 2009. The in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some *Lamiaceae* species from Turkey. *Journal of Medicinal Food*. 12: 902-907.
- Sarni-Manchado P., et Cheynier V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. *Tec & DOC. Lavoisier. Paris*. 398p.
- Satrani B., Arah Abdellah Fechtal M., Talbi B., et Chaouch A. 2001. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du Maroc. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique*. 94 (956): 241-50.
- Schell W.A. 2006. Mycotic agents of human disease. In Fleming D. O., et Hunt D. L. (Ed.). *Biological Safety: Principles and Practises*. 4th ed. pp. 163-178. Washington D. C.: ASM Press.
- Scherer R., et Godoy H.T. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*. 112: 654-658.
- Scherer R., Fumiere Lemos M., Fumiere Lemos M., Coimbra Martinelli G., Martins J.D.L., et Gomez da Silva A. 2013. Antioxidant and antibacterial activities and composition of Brazilianspearmint (*Mentha spicata* L.). *Industrial Crops and Products*. 50: 408-413.
- Seidemann J., et Würzmittel-Lexikon B. 1997. Behr's Verlag, Hamburg.
- Senhadji O., Faid M., Elyachioui M., et Dehhaoui M. 2005. Etude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de mycologie médicale*. 15: 220-229.
- Serrato-Valenti G., Bisio A., Cornara L., et Ciarallo G. 1997. Structural and histochemical investigation of glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves and chemical analysis of the essential oil. *Annals of Botany*. 79: 329-336.

- Servattaz O., Maleci Bini L., et Pinetti A.** 1992. Micromorphological and phytochemical characters of *Teucrium marum* and *T. subspinosum* (Labiatae) from Sardinia and Balearic islands. *Plant Systematics and Evolution*. 179: 129-139.
- Seyedi Z., et Salmaki Y.** 2015. Trichome morphology and its significance in the systematics of *Phlomoides* (Lamiaceae; Lamioideae; Phlomideae). *Flora*. 2013: 40-48.
- Shafiee-Hajiabad M., Hardt M., et Honermeier B.** 2014. Comparative investigation about the trichome morphology of Common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) and Greek oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 1-9.
- Shamohamadi R., Sariri R., Rasa M., et Aghamali M.** 2014. Antioxidant activity of gilan *Mentha pulegium* during growth. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 17(3): 380-7.
- Shan B., Cai Y.Z., Sun M., et Corke H.** 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53: 7749-7759.
- Sharma O.P., et Bhat T.K.** 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113: 1202-1205.
- Shizuka S., et Kawabata J.J.** 2005. Effects of electron-withdrawing substituent's on DPPH radical scavenging reactions of protocatechuic acid and its analogues in alcoholic solvents. *Tetrahedron*. 61: 8101-8108.
- Shon M.Y., Kim T.H., et Sung N.J.** 2003. Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (Phellinus of Hymenochaetaceae) extracts. *Food Chemistry*. 82: 593-597.
- Sijelmassi A.** 1993. Les plantes médicinales du Maroc. 6ème édition. Fennec. Casablanca. 285 p.
- Šilić Č.** 1984. Endemične biljke. Svjetlost, Sarajevo.
- Singleton P.** 2005. Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} édition. DUNOD. Paris. 542p.
- Sofowra A.** 1993. Medicinal Plants And traditional Medicine In Africa. 2^e Edition. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria.
- Souza E.L., Stamford T.L.M., Lima E.O., et Trajano V.N.** 2007. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Control*. 18: 409-413.
- Spichiger R-E., Vincetv savolainen, Murielle Figeat., et Jeanmonod D.** 2004. Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Troisième édition revue et corrigée.
- Sqalli H., El ouarti A., Ennabili A., Ibsouda S., Farah A., Haggoud A., Houari A. et Iraqui M.** 2007. Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre-nord du Maroc. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*. 146: 271-288.
- Stafford H.A.** 1990. Flavonoid metabolism. CRS Press, Boca Raton, FL, USA. 63-99.

Stahl-Biskup E. 1991. The chemical composition of Thymus oils: a review of the literature 1960-1989. *Journal of Essential Oil Research*. 3: 61-82.

Stamler J.S., et Slivka A. 1996. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutrition Review*. 54: 1-30.

Stehbens W.E. 2003. Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Experimental and Molecular Pathology*. 75(3): 265-76.

Steinglein A.S., et Arambarri A.M. 2005. Epidermal features of *Lotus oroboides* = *Ottleya oroboides* (Leguminosae: Lotea). *Lotus Newsletter*. 35.

Stoyanova A., Georgie V., Kula J., et Majda T. 2005. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Research*. 17: 475-477.

Suhr K.I., et Nielson P.V. 2003. Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*. 94: 665-674.

Svoboda K.P., Svoboda T.G., et Syred A. 2001. Secretory structures of aromatic and medicinal plants. A closer look. *Herbalgram*. 54: 34-53.

Swain T., et Hillis W.E. 1959. The phenolics constituents of prunus domestica -I- the quantitative analysis of phenolics constituents. *Journal of the science of food and agriculture*. 10: 13p.

Szigeti G., Sedaghati E., Mahmoudabadi A.Z., Naseri A., Kocsubé S., Vágvölgyi C. et Varga J. 2012. Species assignmen and antifungal susceptibilities of black aspergilli recovered from otomycosis cases in Iran. *Mycoses*. 55: 333-338.

7

Takacsova M., Pribela A., et Faktorova M. 1995. Study of the antioxidative effects of thyme, sage, juniper and oregano. *Nahrung*. 39: 241-243.

Takeuchi H., Lu Z.G., et Fujita T. 2004. New monoterpene glucoside from the aerial parts of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*. 68 (5): 1113- 1134.

Tanguy M. 2009. Antioxydants Première partie: Les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine*. 5 (6): 256-260.

Teh S.S., Bekhit A.E., et Birch J. 2014. Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants*. 3: 67-80.

Teixeira B., Marques A., Ramos C., Batista I., Serrano C., Matos O., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A., et Nunes M.L. 2012. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*. 36:81-87

Teixeira J., Gaspar A., Garrido E.M., Garrido J. et Borges F. 2013. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *Bio. Med. Research International*. 11 p.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., et Polissiou M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Chemistry*. 90: 333-340.

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A. 2005. Plantes aromatiques : Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Éditions TEC & DOC, Lavoisier, Paris*. 522p.

Topalov V., et Dimitrov S. 1969. Studies on the content and quality of essential oil from some peppermint species from Bulgarian Flora. *Plant Science*. 6: 77- 83.

Toussaint B. 2008. Oxygène et stress oxydants, Faculté de Médecine de Greenble (UJF). Université Jose Ph. Furier. 19p.

Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F., et Polat G. 2007. Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules* 12: 484-496.

Turner G.W., Gershenzon J., et Croteau B. 2000. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. *Plant Physiology*. 124: 655-663.

Turner J.C., Hemphill J.K., et Mahlberg E.G. 1980. Trichomes and cannabinoid content of developing leaves and bracts of *Cannabis sativa* L. (*Cannabaceae*). *American Journal of Botany*. 67. 1397-1406.

u

Ulukanli Z., et Akkaya A. 2011. Antibacterial activities of *Marrubium catariifolium* and *Phlomis pungens* Var. *Hirta* grown wild in eastern Anatolia, Turkey. *International Journal of Agricultural and Biological*. 13(1): 105-109.

Unzelman J.M., et Healey E.L. 1974. Development, structure and occurrence of secretory trichomes of *Pharbitis Protoplasma*. 80: 285-303.

Uphof J.C.T., et Hummel K. 1962. Plant hairs. In: *Encyclopedia of Plant Anatomy*, IV, 5. *Gebtrider Borntraeger, Berlin, Nikolassee*. 206 p.

v

Vagionas K., Graikou K., Ngassapa O., Runyoro D., et Chinou I. 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of three *Satureja* species growing in Tanzania. *Food Chemistry*. 103: 319-324.

Valdès B., Rejdali M., Achhal El Kadmiri A., Jury J.L., et Montserrat J.M. 2002. Catalogue des plantes vasculaires du nord du Maroc incluant des clés d'identification. Volume II. *Consejo superior de investigaciones científicas. Madrid*.

Van Acker S.A.B.E., Van den Berg D.J., Tromp M.N.J.L., Griffioen D.H., Van Bennekom W.P., Van der Vijgh W.G.F., et Bast A. 1996. Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20: 331-342.

Van Vuuren S.F., Suliman S., et Viljoen A.M. 2009. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. *Letters in Applied Microbiology*. 48: 440-446.

Vanaclocha B., et Cañigüeral S. 2003. Fitoterapia: Vademecum de Prescripción. 4th Ed. Masson. Barcelona. 1092 p.

Vandeputte V. 2008. Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. Thèse de Doctorat. Université d'Angers. (France). 168p.

Vârban D.I., Duda M., Vârban R., et Muntean S. 2009. Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*. 66(2): 225-229.

Venkatachalam K.V., Kjonaas R., et Croteau R. 1984. Development and essential oil content of secretory glands of sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiology*. 76: 148-150.

Venkateswara Rao G., Mukhopadhyay T., annamalai T., radhakrishnan N., et Sahoo M.R. 2011. Chemical constituents and biological studies of *Origanum vulgare* Linn. *Pharmacognosy Research*. 3: 143-145.

Verma M., Irchhaiya R., Singh P.P., Kailasiya D. et Kanaujia V. 2011. Studies on antiulcer activity of essential oil of *Calamintha officinalis* Moench. *International Journal of Research in Pharmaceutical Science*, 2, 2733-2736.

Vermerris W., et Nicholson R. 2006. Phenolic compounds chemistry. USA: Springer Editions. 276 p.

Vichi S., Zitterl-Eglseer K., Jugl M., et Franz C.H. 2001. Determination of the presence of antioxidants deriving from sage and oregano extracts added to animal fat by means of assessment of the radical scavenging capacity by photochemiluminescence analysis. *Nahrung*. 45: 101-104.

Viuda-Martos M., Navajas Y.R., Zapata E.S. Fernández-López J., et Pérez-Álvarez J.A. 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*. 25: 13-19.

Von Gadow W.A., Joubert E., et Hansmann C.F. 1997. Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chemistry*. 60: 73-77.

Vouldoukis I., Conti M., et Krauss P. 2004. With gliadin-combined plant superoxide dimutase extracts promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *Phytotherapy Research*. 18: 957-962.

W

Wallach O. 1887. Zur Kenntnis der Terpene und ätherischen Oele. Justus Lieb. *Annals of Chemistry*. 238: 78-89.

Waterman P.G. 1999. The tannins. An overview. In: Tannins in Livestock and Human, Nutrition. Proceedings of an international Workshop. Edition: Brooker. Adelaide, Australia. 10-13.

Weerakkody S.N., Caffin N., Turner S.M., et Dukes A.G. 2010. *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected foodborne bacteria. *Food Control*. 21: 1408-1414.

Werker E. 1993. Function of essential oil-Secreting glandular hairs in aromatic plants of Lamiaceae. *Flavour and Fragrance journal*. 8(5): 249-255.

White T.C. 1997. Increased mRNA levels of ERG16, CDR, and MDR1 correlate with increases in azole resistance in *Candida albicans* isolates from a patient infected with human immunodeficiency virus. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 41: 1482-1487.

Wilkinson J.M. 2006. Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapter VIII. pp 157-165. In Ahmad I., Aqil F., et Owais M. Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. 405p.

Williams G.M. 1994. Interventive prophylaxis of liver cancer. *European Journal of Cancer Prevention*. 3: 89-99.

Wilson W.R., Sande M.A., et Drew W.L. 2001. *Current diagnosis & treatment in infectious diseases*. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill.

Wojdylo A., Oszmianski J., et Czemyers R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105: 940-949.

Woo J.H., Kitamura E., Myouga H., et Kanei Y. 2002. An antifungal protein from the marine bacterium *Streptomyces* sp. Strain Ap77 is specific for *Pythium porphyrae*, a causative agent of read disease in porphyra spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(6): 2665-2675.

⌘

Xiang Q., Gao Y., et Xu Y.H. 2007. Capillary electrophoresis-amperometric determination of antioxidant propyl gallate and butylated hydroxyanisole in foods. *Analytical Science*. 23(6): 713-717.

⌘

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., et Ouar Korich M.N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Medicine du Maghreb*. 91: 5-12.

Yang J., Chen C., Zhao S., Ge F., et Liu D. 2014. Effect of solvents on the antioxidant activity of walnut (*Juglans regia* L.) shell extracts. *Journal and Food Nutrition Research*. 2(9): 621-626.

Yin H., Fretté X.C., Christensen L.P., et Grevsen K. 2012. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 60: 136-143.

Yumrutas O., et Saygideger S.D. 2012. Determination of antioxidant and antimutagenic activities of *Phlomis armeniaca* and *Mentha pulegium*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2(1): 36-40.

⌘

Zargari A. 1990. Herbal Medicines. Publication of Tehran University, Tehran, pp. 14-18.

Zeggwagh A.A., Lahlou Y., et Bousliman Y. 2013. Survey of toxicological aspects of herbal medicine used by a herbalist in Fes, Morocco. *Pan Afr Med J*. 14: 125.

Zekri N., Amalich S., Boughdad A., El Belghiti M.A., et Zair T. 2013. Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus Oryzae*. *Mediterranean Journal of Chemistry*. 2(4): 607-619.

Zheng W., et Wang S.Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49: 5165-5170.

Žugić A., Đorđević S., et Arsić I. 2014. Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from Vrujci Spa, Serbia. *Industrial Crops and Products*. 52: 519-527.

Web master:

Web master 1: <https://diversityoflife2012.wikispaces.com/E.+coli>

Web master 2: <http://www.mybiolumix.com/new-bacillus-cereus-vial-for-biolumix/>

Web master 3: <http://proteus-mirabilis.com/>

Web master 4:

<http://www.bode-science-center.com/center/glossary/fungi.html>

Publication 1

Activité antioxydante des extraits de six *Lamiaceae* aromatiques de l'Algérie occidentale

Antioxidant activity of extracts of six aromatic *Lamiaceae* of Western Algeria

A. Tamert · A. Latreche

© Lavoisier SAS 2015

Résumé Les objectifs assignés à la présente étude sont l'évaluation et la comparaison des activités antioxydantes des extraits éthanolique, décocté et infusé de *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele, *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L. La capacité antioxydante des différents extraits est déterminée par la méthode de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), méthode de piégeage du radical libre.

Les résultats démontrent selon les indices d'inhibition que les extraits de *Origanum vulgare* ($IC_{50(EEt)} = 0,74 \pm 0,005$ mg/ml ; $IC_{50(ED)} = 0,32 \pm 0,025$; $IC_{50(EI)} = 1,29 \pm 0,057$), *Mentha pulegium* ($IC_{50(EEt)} = 0,76 \pm 0,015$; $IC_{50(ED)} = 0,65 \pm 0,028$; $IC_{50(EI)} = >2$), *Thymus serpyllum* ($IC_{50(EEt)} = 0,93 \pm 0,02$; $IC_{50(ED)} = 0,89 \pm 0,018$; $IC_{50(EI)} = 1,32 \pm 0,085$) et *Thymus vulgaris* ($IC_{50(EEt)} = 1,07 \pm 0,013$; $IC_{50(ED)} = 1,06 \pm 0,014$; $IC_{50(EI)} = 1,72 \pm 0,10$) possèdent les activités antioxydantes les plus importantes.

L'extrait décocté promulgue la plus forte activité antioxydante parmi les différents extraits testés.

Mots clés Activité antioxydante · *Lamiaceae* · Décoction · Infusion · Extrait éthanolique · Sidi Bel Abbès

Abstract The aims of the present study were to evaluate and compare the antioxidative activities of the ethanolic, decoction and infused extracts of *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele, *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. Furthermore, antioxidant capacity of the various extracts were determined using 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), method of free radical scavenging activity.

The results show according to indices' of inhibition that extracts of *Origanum vulgare* ($IC_{50(EEt)} = 0,74 \pm 0,005$ mg/

ml; $IC_{50(DE)} = 0,32 \pm 0,025$; $IC_{50(IE)} = 1,29 \pm 0,057$), *Mentha pulegium* ($IC_{50(EEt)} = 0,76 \pm 0,015$; $IC_{50(DE)} = 0,65 \pm 0,028$; $IC_{50(IE)} = >2$), *Thymus serpyllum* ($IC_{50(EEt)} = 0,93 \pm 0,02$; $IC_{50(DE)} = 0,89 \pm 0,018$; $IC_{50(IE)} = 1,32 \pm 0,085$) and *Thymus vulgaris* ($IC_{50(EEt)} = 1,07 \pm 0,013$; $IC_{50(DE)} = 1,06 \pm 0,014$; $IC_{50(IE)} = 1,72 \pm 0,10$) have the most significant antioxidant activities. The decoction extract promulgates the highest antioxidant activity among the various tested extracts.

Keywords Antioxidant activity · *Lamiaceae* · Decoction · Infusion · Ethanolic extract · Sidi Bel Abbès

Introduction

En Algérie, le groupe des labiées comprend 28 genres et 146 espèces [1]. Parmi ces espèces nous avons choisi six, importantes pour leurs usages très diversifiés.

Phlomis crinita Cav. est une espèce ouest méditerranéenne [1-3]. Elle est la moins étudiée parmi les espèces de ce genre. Elle est utilisée pour traiter des brûlures, des lésions et des infections de la peau ainsi que certaines allergies [4]. Elle est aussi utilisée pour ses vertus gastroprotectives [4,5].

Satureja calamintha Scheele est largement utilisée par les populations de l'Algérie et du Maroc comme remède contre la toux et les infections respiratoires bénignes [6]. Cette plante stomachique et tonique [7] possède aussi des propriétés antiseptiques et antispasmodiques [8,9].

Origanum vulgare L. est une herbe très commune distribuée en Europe, en Afrique du Nord, en Amérique et en Asie [10]. Cette herbe est répandue comme une épice et est également utilisée pour le traitement de la toux et les troubles digestifs [11]. Elle est connue aussi pour ses activités antimicrobiennes et antioxydantes [12].

Mentha pulegium L. est indigène en Afrique du Nord, en Europe et en Asie [13]. Elle est employée pour le traitement de la bronchite et des intoxications alimentaires [14]. On la reconnaît également pour ses effets antispasmodique, anti-inflammatoire [15], antioxydant [16-18], et ses propriétés antimicrobiennes [18,19].

A. Tamert (✉) · A. Latreche
Laboratoire de biodiversité végétale : conservation et valorisation,
faculté des sciences de la nature et de la vie,
université Djillali-Liabès, BP 89, Haï Larbi Ben M'Hidi,
Sidi Bel Abbès, 22000, Algérie
e-mail : tamertasma@hotmail.fr

Thymus serpyllum L. est indigène en Europe méditerranéenne et en Afrique du Nord, localisée aux altitudes élevées. Elle est reconnue pour son usage dans divers remèdes traditionnels. Elle est antiseptique, diaphorétique, stimulante et employée en collutoires et gargarismes et contre la toux [20].

Thymus vulgaris L. est une herbe éternelle indigène en Europe centrale et méridionale, en Afrique et en Asie. Elle est largement répandue dans la médecine traditionnelle dans les traitements des gastroentérites et les affections broncho-pulmonaires. Elle possède aussi de nombreuses activités biologiques, antiseptique, antispasmodique [21], antioxydante [22] et antimicrobienne [23].

Les substances antioxydantes et antiradicalaires sont reconnues en tant que suppléments diététiques importants. Ils jouent un rôle protecteur dans beaucoup de maladies [24]. Ces dernières années, de nombreuses études ont été effectuées pour la découverte des antioxydants provenant des plantes.

De nombreux rapports sur les extraits antioxydants de plantes médicinales sont apparus, fortement inspiré par un intérêt croissant pour des régimes alimentaires sains [25,26].

L'objectif de notre étude est d'évaluer et comparer l'effet antioxydant des extraits éthanolique, décocté et infusé de six espèces de *Lamiaceae* à savoir, *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele, *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les six espèces choisies (*Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* Scheele, *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. et *Thymus vulgaris* L.) ont été récoltées dans la région de Sidi Bel Abbès (Nord ouest d'Algérie) en juin 2014.

L'identification des taxons retenus s'est faite avec la clé de détermination de la flore de Quézel et Santa [1]. Des spécimens ont été conservés au laboratoire de biodiversité végétale : conservation et valorisation, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Sidi Bel Abbès.

Les feuilles prélevées sont mises à sécher à l'abri de la lumière et de l'humidité puis réduites en poudre.

Préparation des extraits

Les extraits aqueux et éthanoliques ont été préparés à raison de 15 g de poudre pour 100 ml d'eau ou d'éthanol :

- Pour l'infusion, la poudre est infusée durant 24 heures dans l'eau distillée puis filtrée ;

- Pour la décoction, la poudre mélangée à l'eau bouillante est portée à ébullition pendant quinze minutes, puis filtrée.
- Concernant l'extraction à l'éthanol, la poudre est macérée 24 heures dans l'éthanol absolu à l'obscurité. Après filtration, le solvant est évaporé à sec et sous vide au rotavapor à 37°C. L'extrait est ensuite repris dans 5 ml d'eau distillée stérile.

La filtration des différents extraits est assurée par filtration sous vide avec une pompe à eau et un filtre Millipore de porosité 1 µm [27].

Tous les extraits ont été lyophilisés afin de pouvoir préparer les différentes concentrations.

Le rendement des extraits éthanoliques, décoctés et infusés a été calculé par la formule suivante : $R (\%) = (M/M_0) \times 100$

Avec : R (%): Rendement exprimé en % ; M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant ; M₀: Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

Évaluation de l'effet antioxydant des extraits

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée selon la méthode du DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) [28]. Dans ce test, les antioxydants réduisent le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl de couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine.

50 µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (2- 1- 0,5- 0,25- 0,125- 0,0625 mg/ml) sont ajoutés à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,0025 g/l). La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

- L'activité antiradicalaire vis-à-vis du DPPH (%) = $[(Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{échantillon testé}}) / Abs_{\text{blanc}}] \times 100$
- Abs_{blanc} : absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs sauf l'extrait).

Pour chaque extrait, nous avons déterminé la valeur IC₅₀, concentration de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH [29]. Les IC₅₀ sont déterminées en utilisant Microsoft Office Excel 2007. Elles sont calculées par les droites de régression linéaires (y=ax+b) résultantes des graphes tracés des pourcentages d'activité antioxydante en fonction de différentes concentrations des extraits et du standard utilisé. Pour des raisons de clarté, nous parlerons en termes d'1/IC₅₀ ou puissance antiradicalaire (ARP) : plus l'ARP est grand, plus l'antioxydant est plus efficace [30].

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Traitement statistique des résultats biochimiques

La comparaison des résultats de l'IC₅₀ des extraits éthanolique, décocté et infusé des six taxons retenus a été effectuée par l'analyse en composantes principales (ACP) en utilisant le logiciel Statistica 6 version 6.31.100.1190. Cette ACP a été employée également dans le but de visualiser les affinités existantes entre les IC₅₀ (variables quantitatives) et les espèces choisies (individus). Les résultats exprimés sont la moyenne de trois mesures effectuées.

Résultats

Les résultats présentés dans le tableau 1 correspondent aux différents rendements, à l'IC₅₀ et l'ARP des différents extraits des espèces étudiées. Les figures 1 à 7 explicitent les résultats du pouvoir antioxydant des extraits de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* et de l'acide ascorbique par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. L'activité antiradicalaire des différents extraits et de l'acide ascorbique est exprimée par l'IC₅₀. Une valeur faible d'IC₅₀ implique une forte activité antioxydante.

Les résultats mentionnés dans le tableau 1 montrent que les IC₅₀ varient en fonction du type d'extrait et de l'espèce. En effet, les plus faibles IC₅₀ sont notées chez

les extraits décoctés (les extraits de *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* sont les mieux représentés avec des IC₅₀ respectives de $0,32 \pm 0,025$ mg/ml et de $0,65 \pm 0,028$ mg/ml tandis que les plus fortes caractérisent les extraits de *Phlomis crinita* ($1,78 \pm 0,001$ mg/ml) et *Satureja calamintha* ($1,38 \pm 0,015$ mg/ml)).

Les extraits éthanoliques ont enregistré à leur tour des concentrations inhibitrices de 50% de DPPH faibles (les extraits de l'origan et la menthe pouliot ont remarqué des IC₅₀ faibles ($0,74 \pm 0,005$ mg/ml et $0,76 \pm 0,015$ mg/ml) et la forte concentration d'inhibition est représenté par l'extrait de la sarriette ($1,76 \pm 0,012$ mg/ml)).

Par contre les fortes IC₅₀ caractérisent les extraits infusés (les extraits de *Origanum vulgare* et *Thymus serpyllum* sont les moins ($1,29 \pm 0,057$ mg/ml et $1,32 \pm 0,085$ mg/ml) et les extraits de *P. crinita*, *S. calamintha* et *M. pulegium* sont les plus fortes par des valeurs supérieures à 2 mg/ml).

Le standard testé (acide ascorbique) a enregistré de bonne concentration inhibitrice avec une valeur de $0,43 \pm 0,013$ mg/ml.

Analyse en composantes principales

Les données traitées par l'analyse en composantes principales sont le croisement entre les valeurs de l'IC₅₀ affiliées respectivement à chaque taxon étudié.

Espèces	Extraits	Rendement (%)	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
<i>Phlomis crinita</i>	Éthanolique	3,20	$1,12 \pm 0,001$	$0,89 \pm 0,001$
	Décocté	6,12	$1,78 \pm 0,001$	$0,56 \pm 0,001$
	Infuse	8,17	>2	<0,5
<i>Satureja calamintha</i>	Éthanolique	4,40	$1,76 \pm 0,012$	$0,57 \pm 0,005$
	Décocté	6,99	$1,38 \pm 0,015$	$0,72 \pm 0,01$
	Infuse	10,64	>2	<0,5
<i>Origanum vulgare</i>	Éthanolique	1,28	$0,74 \pm 0,005$	$1,34 \pm 0,01$
	Décocté	4,55	$0,32 \pm 0,025$	$3,09 \pm 0,235$
	Infuse	14,91	$1,29 \pm 0,057$	$0,78 \pm 0,035$
<i>Mentha pulegium</i>	Éthanolique	3,34	$0,76 \pm 0,015$	$1,31 \pm 0,025$
	Décocté	1,25	$0,65 \pm 0,028$	$1,54 \pm 0,065$
	Infuse	11,20	>2	<0,5
<i>Thymus serpyllum</i>	Éthanolique	4,33	$0,93 \pm 0,02$	$1,07 \pm 0,025$
	Décocté	12,21	$0,89 \pm 0,018$	$1,12 \pm 0,02$
	Infuse	9,62	$1,32 \pm 0,085$	$0,76 \pm 0,045$
<i>Thymus vulgaris</i>	Éthanolique	12,35	$1,07 \pm 0,013$	$0,93 \pm 0,012$
	Décocté	7,22	$1,06 \pm 0,014$	$0,94 \pm 0,013$
	Infuse	3,81	$1,72 \pm 0,10$	$0,58 \pm 0,035$
<i>Acide ascorbique</i>	/	/	$0,43 \pm 0,013$	$2,29 \pm 0,07$

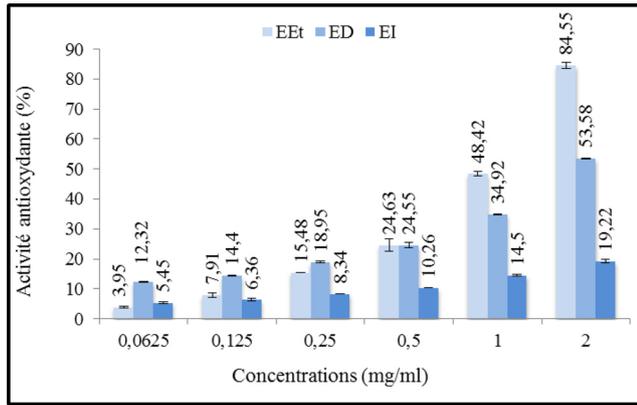


Fig. 1 Activité antioxydante (en %) des extraits de *Phlomis crinita*

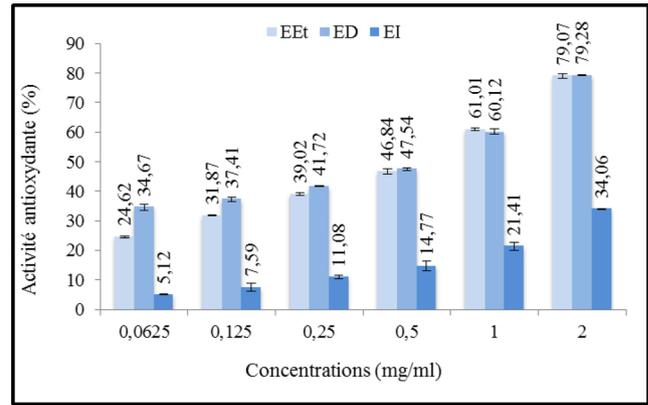


Fig. 4 Activité antioxydante (en %) des extraits de *Mentha pulegium*

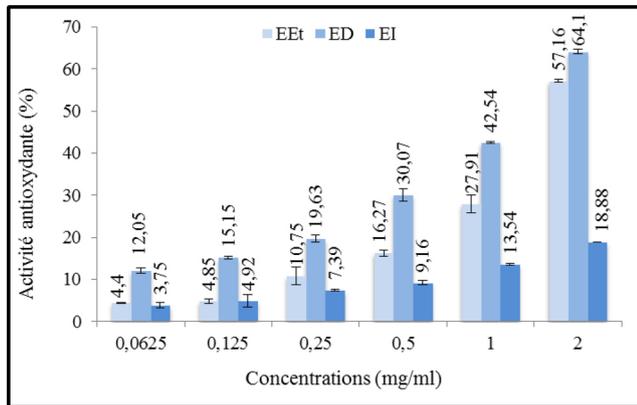


Fig. 2 Activité antioxydante (en %) des extraits de *Satureja calamintha*

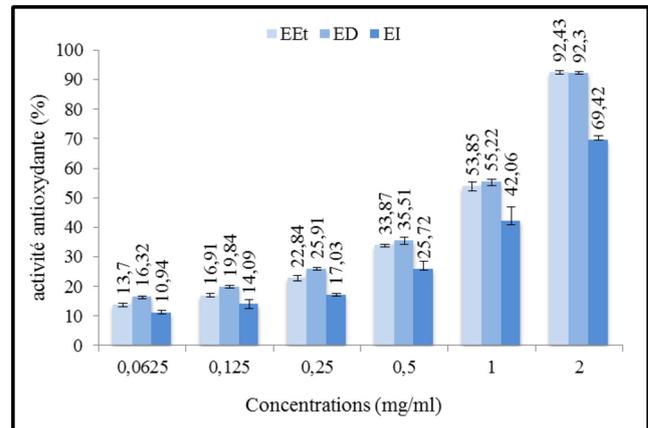


Fig. 5 Activité antioxydante (en %) des extraits de *Thymus serpyllum*

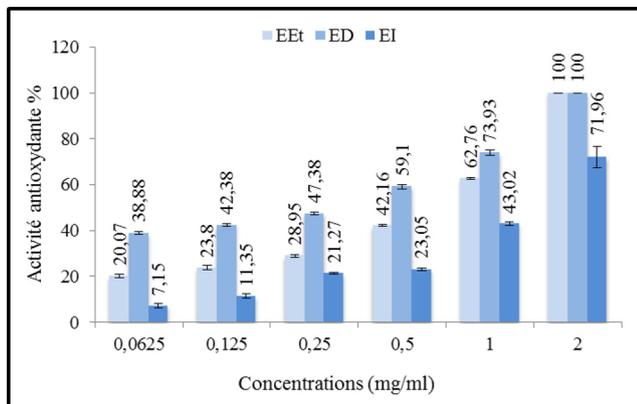


Fig. 3 Activité antioxydante (en %) des extraits de *Origanum vulgare*

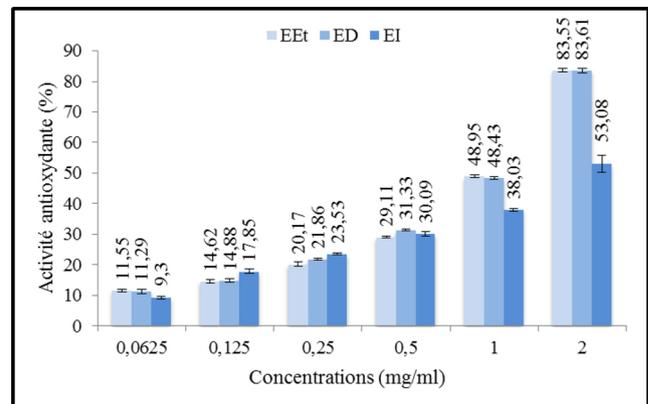


Fig. 6 Activité antioxydante (en %) des extraits de *Thymus vulgaris*

Analyse du plan factoriel des individus (les espèces étudiées)

Au niveau du plan factoriel (F1 × F2), 82,53% de l'information est expliquée par l'axe F1 et 11,65% donnée par l'axe F2.

La contribution des différents individus (Tableau 2) et la ségrégation de l'ACP sur le plan factoriel (F1 × F2) (Fig. 8) ont permis de mettre en évidence deux groupes principaux :

- Le groupe 1 (Gr1), représenté par *Origanum vulgare*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* et *Mentha pulegium*. Ce

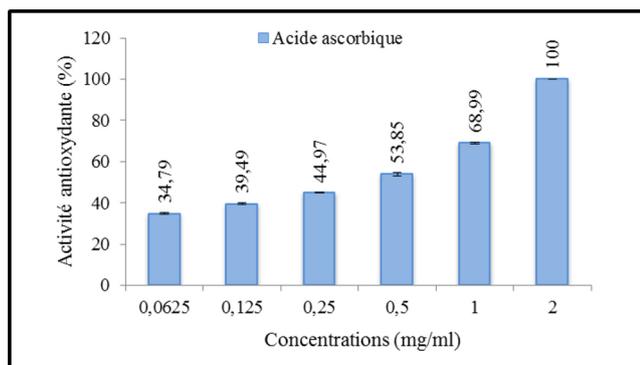


Fig. 7 Activité antioxydante de l'acide ascorbique

Tableau 2 Contribution des individus sur les axes 1 et 2.

	Axe 1	Axe 2
<i>Phlomis crinita</i>	-1,68369	-0,960136
<i>Satureja calamintha</i>	-2,18263	0,836445
<i>Origanum vulgare</i>	1,75865	0,211466
<i>Mentha pulegium</i>	0,93831	-0,252440
<i>Thymus serpyllum</i>	0,83325	0,037637
<i>Thymus vulgaris</i>	0,33611	0,127028

groupe réunit les espèces végétales qui ont une activité antioxydante élevée.

- Le groupe 2 (Gr2) regroupe *Phlomis crinita* et *Satureja calamintha*, espèces dont les activités antiradicalaires sont les plus faibles.

Discussion

La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des plantes étudiées car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical [31,32].

L'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Phlomis crinita*, *Satureja calamintha*, *Origanum vulgare*, *Mentha pulegium*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* est exprimée en pourcentages d'inhibition et en concentrations inhibitrices 50 (IC₅₀). Ces deux paramètres ont été employés par plusieurs chercheurs pour déterminer l'activité antioxydante des différents métabolites secondaires de diverses plantes [33-36]. L'utilisation de l'analyse en composantes principales a été retenue pour synthétiser les résultats et pour éventuellement ressortir le groupe des espèces qui recèlent les activités antioxydantes les plus importantes en relation avec les modes optimaux d'extraction. Les études sur les extraits des différentes espèces végétales montrent que la

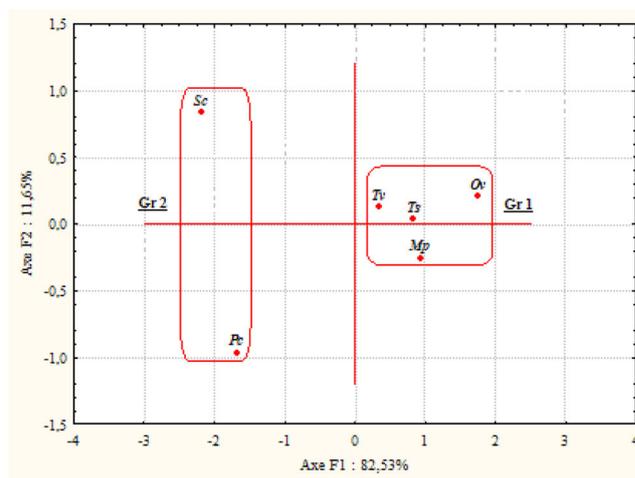


Fig. 8 Projection des individus sur le plan factoriel (F1 x F2)

famille des *Lamiaceae* possède les activités antioxydantes les plus fortes [37-39].

Les résultats obtenus confirment que les extraits de *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum* et *Mentha pulegium* possèdent une activité antiradicalaire importante. Ces mêmes constatations sont signalées par Kulišić et al. sur les extraits des feuilles de *O. vulgare*, *T. vulgaris* et *T. serpyllum* [40]. Scherer et Godoy montrent que les extraits éthanologique et décocté de *M. pulegium* sont classés respectivement en tant qu'antioxydants modérés et très forts [41].

Nos résultats montrent que les extraits de *Satureja calamintha* sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré. Ces valeurs sont en accord avec celles obtenues par Boughandoura et Bendimered [42]. *O. vulgare*, *M. pulegium*, *T. serpyllum* et *T. vulgaris* proposent des pouvoirs antioxydants relativement plus élevés.

L'étude du pouvoir antioxydant des extraits éthanologique, décocté et infusé de *Phlomis crinita* n'a jamais été entrepris.

L'acide ascorbique a enregistré une faible concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) (0,43 ± 0,013 mg/ml). En comparant cette IC₅₀ avec celles enregistrées par les extraits, nous remarquons que l'extrait décocté de *Origanum vulgare* avec une IC₅₀ de 0,32 ± 0,025 mg/ml est plus puissant que le standard analysé. Ces résultats approuvent l'efficacité antioxydante de l'extrait de l'origan.

Les figures 2 à 6 montrent que les extraits décoctés présentent l'activité antiradicalaire la plus élevée, suivie par l'extrait éthanologique. L'activité antioxydante la plus faible est celle de l'extrait infusé. Travaillant sur les trois extraits de *Thymus vulgaris* (infusé, décocté et extrait hydroalcoolique), Martins et al. a mentionné que l'activité antioxydante de l'extrait décocté est la plus élevée [43].

Aussi, l'extrait décocté de *Mentha pulegium* est celui qui possède l'activité de piégeage des radicaux libres la plus élevée suivi ensuite par l'extrait éthanologique et l'extrait infusé [18].

La plupart des études expliquent la variation du potentiel antioxydant en fonction des solvants d'extraction selon leur polarité [44-46].

Sharma et Bhat, Shizuka et Kawabata stipulent que la variation de l'activité antioxydante en fonction des solvants d'extraction est due essentiellement à la variabilité dans leurs profils d'absorbance de DPPH [47,48].

L'activité antioxydante des extraits décoctés est plus élevée que celle des extraits organiques parce que les composants actifs tels que les flavonoïdes, terpénoïdes, les polyphénols, les caroténoïdes et les stérols sont localisés dans la section des fibres des plantes et sont plus facilement dissous dans l'eau [49].

Koleva et al., Von Gadow et al. notent que l'extrait décocté, chimiquement très diversifié, est constitué par plusieurs composés comme l'acide rosmarinique, l'acide caféique, l'acide p -hydroxybenzoïque, l'apigénine, la lutéoline et la quercétine. Ces substances possèdent des capacités élevées du piégeage de radical libre. Elles sont aussi responsables des cinétiques les plus rapides [50,51].

Wojdylo et al., Katalinic et al., Atmani et al. ont rapporté une corrélation entre les teneurs en polyphénols et les propriétés antioxydantes [52-54]. Les variétés et les quantités des composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les flavonols sont déterminantes pour l'activité antioxydante [55,56].

Les phénols sont des composés organiques qui contiennent un groupe hydroxyle lié directement à l'anneau aromatique et l'H-atome du groupe hydroxyle peut emprisonner des radicaux de peroxy, empêchant d'autres composés à oxyder [57]. De cette façon, l'activité antioxydante est due à la présence des phénols. D'autres composés tels que l'acide ascorbique, le tocophérol et certains pigments contribuent aussi au pouvoir antioxydant des plantes [58].

Les composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, constituants abondants chez *Origanum vulgare* sont responsables de son activité antioxydante [59-62]. Lagouri et Boskou mentionnent que cinq composés phénoliques majoritaires des extraits de l'origan, l'acide protocatéchique et son glucoside, l'acide caféique, l'acide rosmarinique et un acide phénolique dérivé de l'acide rosmarinique contribuent à l'activité antioxydante élevée de cette espèce [63]. D'autres études montrent que d'autres composés phénoliques de cette même espèce possèdent une forte activité antioxydante comme le 3,4-dihydroxyphenyl, la gastrodine et le 3-(3,4-dihydroxyphenyl) acide lactique [64,65].

Les principaux composés phénoliques de *Thymus vulgaris* et *Thymus serpyllum* sont l'acide rosmarinique, la lutéoline-7-O- β -glucuronide et le glucoside de lutéoline [66]. L'activité antioxydante due essentiellement aux constituants phénoliques, justifie les utilisations traditionnelles des thymus [67,68].

Kamkar et al. indiquent l'importance de l'activité antioxydante des extraits de *Mentha pulegium* ce qui est attribuée à la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits [69]. Les composés phénoliques par leurs propriétés de réduction associées à leurs groupes OH sont responsables de la capacité antioxydante élevée de *M. pulegium* [70].

Les plus basses capacités de balayage de DPPH sont rattachées à *Satureja calamintha* [71]. La faible activité antioxydante de cette espèce est expliquée par le manque de composés phénoliques [72]. Manque appel fig3 Manque appel fig4 Manque appel fig5 Manque appel fig6 Manque appel fig7

Conclusion

Nos résultats nous ont permis de vérifier l'importance de l'activité antioxydante de quelques *Lamiaceae* sauvages de l'ouest algérien. Les genres *Origanum*, *Mentha* et *Thymus* se dressent comme les taxons qui recèlent le plus de pouvoir oxydant. Aussi, les résultats obtenus confirment que les extraits décoctés sont ceux qui piègent le plus de radicaux libres, suivis par les extraits éthanoliques et enfin les extraits infusés.

Ainsi, une classification spécifique des taxons relative aux concentrations des produits antioxydants est établie ainsi que les modes d'extraction qui libèrent le plus ces substances antioxydantes.

Références

1. Quézel P, Santa S (1963) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed Centre National de la recherche scientifique, 1170 p
2. Mathiesen C, Scheen AC, Lindqvist C (2011) Phylogeny and biogeography of the lamioid genus *phlomis* (Lamiaceae). Kew Bull 66: 83-99
3. Valdès B, Rejdali M, Achhal El Kadmiri A, et al (2002) Catalogue des plantes vasculaires du nord du Maroc incluant des clés d'identification, Volume II, Consejo superior de investigacione científicas, Madrid
4. Limem-Ben Amor I, Neffati A, Ben Sgaier M, et al (2009) Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. J Ethnopharmacol 125:183-202
5. Gürbüz I, Ustun O, Yesilada E, et al (2003) Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. J Ethnopharmacol 88:93-97
6. Padrini F, Lucheron MT (1996) Le grand livre des huiles essentielles : Guide pratique pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et le massage énergétique avec plus de 100 photographies, Ed De Vecchi, p. 15
7. Baba Aïssa F (2000) Encyclopédie des plantes utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident, Ed Librairie moderne Rouiba, p. 46
8. Lamendin H (2007) Soignez votre bouche par les plantes : remède d'hier et aujourd'hui, 5^e Ed L'Harmattan, Paris, p. 34

9. Perrucci S, Mancianti F, Cioni PL, et al (1994) In vitro antifungal activity of essential oils against some isolated of *Microsporiumcanis* and *Microsporiumgypseum*. *Planta Med* 60:184–7
10. Kintzios SE (2002) Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia* (medicinal and aromatic plants-industrial profiles). New York: CRC Press
11. Yin H, Fretté XC, Christensen LP, et al (2012) Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *J Agric Food Chem* 60:136–43
12. Lemhadri A, Zeggwagh NA, Maghrani M, et al (2004) Antihyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region. *J Ethnopharmacol* 92:251–6
13. Chalchat JC, Gorunovic MS, Maksimovic ZA, et al (2000) Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *J Essent Oil Res* 12:598–600
14. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C (1998) PDR for Herbal Medicines. Medical Economic Company, Montvale NJ, 975–6
15. Shirazi FH, Ahmadi N, Kamelinejad M (2004) Evaluation of Northern Iran *Mentha pulegium* cytotoxicity. *DARU* 12:106–10
16. Jain S, Jain DK, Balekar N (2012) In vivo antioxidant activity of ethanolic extract of *Mentha pulegium* leaf against CCl₄ induced toxicity in rats. *Asian Pac J Trop Med* 737–40
17. Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, et al (2007) Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem* 103:778–86
18. Teixeira B, Marques A, Ramos C, et al (2012) European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Ind Crop Prod* 36:81–7
19. Erhan MK, Bölükbaşı ŞC, Ürüşan H (2012) Biological activities of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) in broilers. *Livest Sci* 146:189–92
20. Pirbalouti AG, Hashemi M, Ghahfarokhchic FT (2013) Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Ind Crops Prod* 48:43–8
21. Vanaeloch B, Cañigual S (2003) *Fitoterapia: Vademecum de Prescripción*, Masson 4th Ed Barcelona, 1092 p
22. Viuda-Martos M, Navajas YR, Zapata ES, et al (2010) Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Frag J* 25:13–9
23. Kon K, Rai M (2012) Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with other essential oils. *Bioscience* 4:50–6
24. Feugang JM, Konarski P, Zou D, et al (2006) Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci* 11:2574–89
25. Chew YL, Goh JK, Lim YY (2009) Assessment of in vitro antioxidant capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from *Leguminosae* family in Peninsular Malaysia. *Food Chem* 116:13–8
26. Socha R, Juszczak L, Pietrzyk S, et al (2009) Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys. *Food Chem* 113:568–74
27. Sqalli H, El ouarti A, Ennabili A, et al (2007) Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre-nord du Maroc. *Bull Soc Pharm Bordeaux* 146:271–88
28. Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F (1998) A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Technol Int* 8:121–137
29. Samarth RM, Panwar M, Soni A, et al (2008) Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract. *Food Chem* 106:868–73
30. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol* 28:25–30
31. Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, et al (2008) Phenolics antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*). *Food Chem* 111:925–9
32. Huang D, Ou B, Prior RL (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53:1841–56
33. Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, et al (2005) Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem* 89:27–36
34. Bertonecelj J, Dobersek U, Jamnik M, et al (2007) Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian Honey. *Food Chem* 105:822–8
35. Canadanovic-Brunet JM, Djilas SM, Cetkovic GS (2005) Free radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium*) extracts. *J Sci Food Agric* 85:265–272
36. Kumaran A, Joel Karunakaran R (2007) In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Sci Technol* 40:344–52
37. Lamaison JL, Petitjeanfreytet C (1996) Medicinal *Lamiaceae* with antioxidant activity, potential sources of rosmarinic acid. *Pharm Acta Helv* 66:185–8
38. Shan B, Cai YZ, Sun M, et al (2005) Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem* 53:7749–59
39. Zheng W, Wang SY (2001) Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem* 49:5165–70
40. Kulišić T, Dragović-Uzelac V, Miloš M (2006) Antioxydant activity of aqueous tea infusions prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol Biotechnol* 44(4):485–92
41. Scherer R, Godoy HT (2009) Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem* 112:654–8
42. Boughandoura N, Bendimered N (2012) Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *nepeta* (L.) Briq. *Nat Technol* 9:14–9
43. Martins N, Barros L, Santos-Buelga C, et al (2015) Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterization. *Food Chem* 167:131–7
44. Teh SS, Bekhit AE, Birch J (2014) Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants* 3:67–80
45. Tepe B, Daferera D, Sokmen A, et al (2005) Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Chem* 90:333–40
46. Yang J, Chen C, Zhao S, et al (2014) Effect of solvents on the antioxidant activity of walnut (*Juglans regia* L.) shell extracts. *J Food Nutr* 2(9):621–6
47. Sharma OP, Bhat TK (2009) DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem* 113:1202–5
48. Shizuka S, Kawabata JJ (2005) Effects of electron-withdrawing substituent's on DPPH radical scavenging reactions of protocatechuic acid and its analogues in alcoholic solvents. *Tetrahedron* 61:8101–8
49. Rahmat A, Kumar V, Fong LM, et al (2003) Determination of total antioxidant activity in three types of local vegetables shoots and the cytotoxic effect of their ethanolic extracts against different cancer cell lines. *Asia Pacific J Clin Nutr* 12:308–11
50. Koleva I, Niederländer HAG, Van Beek TA (2000) An on-line HPLC method for detection of radical scavenging compounds in complex mixtures. *Anal Chem* 72:2323–8
51. Von Gadow WA, Joubert E, Hansmann CF (1997) Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chem* 60:73–7
52. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem* 105:940–9

53. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, et al (2006) Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem* 94:550–7
54. Atmani D, Chaher N, Berboucha M, et al (2009) Antioxidant capacity and phenol content of selected algerian medicinal plants. *Food Chem* 112:303–9
55. Vermerris W, Nicholson R (2006) *Phenolic compounds chemistry*, USA: Springer Editions, 276 p
56. Yumrutas O, Saygideger SD (2012) Determination of antioxidant and antimutagenic activities of *Phlomis armeniaca* and *Mentha pulegium*. *J Appl Pharm Sci* 2(1):36–40
57. Nguyen MT, Kryachko ES, Vanquickenborne LG (2003) General and theoretical aspects of phenols. In: Rappoport Z (ed) *The Chemistry of Phenols*. John Wiley et Sons Ltd, Chichester, West Sussex, UK, pp 1–198
58. Li JW, Ding SD, Ding XL (2005) Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochem* 40:3607–13
59. Chou TH, Ding HY, Lin RJ, et al (2010) Inhibition of melanogenesis and oxidation by protocatechuic acid from *Origanum vulgare* (Oregano). *J Nat Prod* 73:1767–74
60. Ding HY, Chou TH, Liang CH (2010) Antioxidant and antimelanogenic properties of rosmarinic acid methyl ester from *Origanum vulgare*. *Food Chem* 123:254–62
61. Liang CH, Chan LP, Ding HY, et al (2012) Free radical scavenging activity of 4-(3,4-Dihydroxybenzoyloxymethyl)phenyl-O-β-D-glucopyranoside from *Origanum vulgare* and its protection against oxidative damage. *J Agr Food Chem* 60:7690–6
62. Vichi S, Zitterl-Eglseer K, Jugl M, et al (2001) Determination of the presence of antioxidants deriving from sage and oregano extracts added to animal fat by means of assessment of the radical scavenging capacity by photochemiluminescence analysis. *Nahrung* 45:101–4
63. Lagouri V, Boskou D (1996) Nutrient antioxidants in oregano. *Int J Food Sci Nutr* 47:493–7
64. Kikuzani H, Nakatani N (1989) Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agr Biol Chem* 53: 519–24
65. Liu HB, Zheng AM, Liu HL, et al (2012) Identification of three novel polyphenolic compounds, Origanine A–C, with unique skeleton from *Origanum vulgare* L. using the hyphenated LC-DAD-SPENMR/ MS methods. *J Agr Food Chem* 60:129–35
66. Fecka I, Turek S (2008) Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from *Lamiaceae*: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. *Food Chem* 108:1039–53
67. Hazzit M, Baaliouamer A, Verissimo AR, et al (2009) Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chem* 116:714–21
68. Takacsova M, Pribela A, Faktorova M (1995) Study of the antioxidative effects of thyme, sage, juniper and oregano. *Nahrung* 39:241–3
69. Kamkar A, Javan AJ, Asadi F, et al (2010) The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem Toxicol* 48:1796–1800
70. Shamohamadi R, Sariri R, Rasa M, et al (2014) Antioxidant activity of gilán *Mentha pulegium* during growth. *Pak J Biol Sci* 17 (3):380–7
71. Cherrat L, Espina L, Bakkoli M, et al (2014) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innov. Food Sci Emerg* 22:221–9
72. Ruberto G, Baratta MT (2000) Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem* 69:167–74

Publication 2

Quantitative Analysis of Polyphenols of some *Lamiaceae* Species in the Region of Sidi Bel Abbes (Western Algeria)

Asma Tamert

*Laboratory of Plant Biodiversity: Valorization and Conservation
Faculty of Life and Natural Sciences, Djillali Liabes University
BP 89, Haï Larbi Ben M'Hidi, Sidi Bel Abbés, 22000, Algeria*

E-mail: tamertasma@hotmail.fr

Tel: +213-552-15-00-19

Ali Latreche

*Laboratory of Plant Biodiversity: Valorization and Conservation
Faculty of Life and Natural Sciences, Djillali Liabes University
BP 89, Haï Larbi Ben M'Hidi, Sidi Bel Abbés, 22000, Algeria*

Zoheir Mehdadi

*Laboratory of Plant Biodiversity: Valorization and Conservation
Faculty of Life and Natural Sciences, Djillali Liabes University
BP 89, Haï Larbi Ben M'Hidi, Sidi Bel Abbés, 22000, Algeria*

Abstract

Phlomis crinita Cav., *Satureja calamintha* briq., *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. of *Lamiaceae* are used in traditional medicine and pharmacopeia. In order to promote these species, we carried out a colorimetric and a quantitative dosage using spectrophotometer UV-visible of total phenols, flavonoids as well as condensed and hydrolysable tannins. The dosage of polyphenolic compounds, from methanolic extract, showed that the rate of the condensed tannins varied from 0,564 to 1,794 % and the hydrolysable tannins varied from 0,085 to 0,139 %. The rate of total phenols was included between 17,60 and 71,04 mg GAE/g of matter dries. However, the rate of the flavonoids was 4,29 - 7,34 mg CE/g of dry matter. Thus, these results have brought additional data for the better knowledge of these taxa and of their characters, especially highlight, in a comparative approach, the differences between these *Lamiaceae*.

Keywords: *Lamiaceae*, Total phenols, Flavonoids, Condensed tannins, hydrolysable tannins, Sidi Bel Abbes.

1. Introduction

The wild plants' phytobiomass contains a significant number of molecules having beneficial interests in industry, in food processing, in cosmetology and dermo-pharmacy. Among these compounds, we have coumarins, alkaloids, phenolic acids, tannins, lignanes, terpenes and flavonoids (Bahorun, 1997). The aromatic herbs are regarded, too, as significant sources of flavonoids (Marfak, 2003). *Lamiaceae* are considered to be one of the richest families in polyphenols (Kosar et al., 2005; Vági et al., 2005; Gortzi et al., 2007; Fecka and Turek, 2008).

Lamiaceae include 6970 species distributed in 258 genus (Judd et al., 2002). Their distribution area is extremely wide, mainly in the Mediterranean regions. Sages, thymes, lavenders and rosemary characterize the flora of the garrigues in these areas. Moreover, this family is remarkably homogeneous. A lamiaceae is easy to recognize.

In Algeria, the lamiaceae contain 28 genus and 146 species (Quezel and Santa, 1963). Among these various species we selected six, the richest ones in essential oils and the most used, such as: *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* briq, *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L.) on which we undertook a quantitative and a comparative assessment in polyphenols' content.

2. Material and Methods

2.1 Plant Material

The six selected taxa (*Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* briq., *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. & *Thymus vulgaris* L.) were collected in the region of Sidi Bel Abbes (Western Algeria) in May 2013. The leaves, taken as samples, were dried, put in darkness and protected from moisture, then crushed to powder for the quantification of total phenols, flavonoids, condensed and hydrolysable tannins.

2.2 Dosage of Total Phenols and Flavonoids

2.2.1 Extraction

0,2 gr of leaves were crushed at 4°C in methanol (80%). After agitation using vortex, the mixture was centrifuged at 4000 rpm during 10 mn. The recovered supernatant corresponded to an extracted hydroalcoholic component, stored at -20°C for analyses (El Hadrami et al., 1997).

2.2.2 Dosage of Total Phenols

The total phenols content was estimated using colorimetric method of Folin- Ciocalteu (El Hadrami et al., 1997), which is one of the most used methods to determine the polyphenols content in medicinal plants (Abdel-Hameed, 2009).

50µl of the extracted hydroalcoholic were diluted in 2,5 ml of distilled water in addition with 250 µl of reagent of Folin-Ciocalteu. The obtained mixture was agitated with vortex followed by a rest of 5 mn at room temperature. After a second agitation, 500µl of sodium carbonate 20% were added to the mixture. After incubation at 40°C during 30 mn, the mixture was kept at room temperature in darkness during 60 mn. The optical density (O.D) was read by UV-visible spectrophotometer at 765 nm.

The gallic acid is the most standard used in Folin- Ciocalteu method (Maisuthisakul et al., 2008). A calibration curve was performed using gallic acid with various concentrations (0- 100- 200- 300- 400- 500 mg/L). Under the same conditions, the total phenols will be determined (El Hadrami et al., 1997).

2.2.3 Dosage of Flavonoids

The determination of the flavonoids content in the studied leaves was done using the aluminium trichloride (AlCl₃) method (El Hadrami et al., 1997).

500µl of hydroalcoholic extract were added to 1500µl of distilled water and 150 µl of sodium nitrate at 5%. The mixture was left during 5 mn at room temperature in darkness, and then added to 150µl of AlCl₃ at 10 %. After a rest of 11mn in darkness; 500 µl of soda (1M) was added. The mixture was agitated using the vortex and the optical density was read at 510 nm.

A calibration curve was obtained, using catechin with various concentrations (0- 10- 20- 30- 40- 50 mg/L), under the same operating conditions that the samples will serve for the flavonoids quantification.

2.3 Dosage of the Tannins

2.3.1 Condensed Tannins

The protocol used was that suggested by Swain and Hillis (1959). 0,2 gr. of plants powder were macerated during 18 h in 10 ml of methanol (80%). The mixture was then filtered and 1 ml of the filtrate was added to 2 ml of a solution containing vanillin at 1% in sulfuric acid (70%). The solution was put in a Bain-Marie during 15min at 20°C in darkness. Then, the optical density was read at 500 nm.

2.3.2 Hydrolysable Tannins

The dosage was performed using the method of Mole and Waterman (1987). 0,2 gr. of crushed leaves were macerated during 18 h in 10 ml of methanol (80%). After maceration, the mixture was filtered. 1ml of the filtrate was added to 3,5 ml of a solution containing Ferric trichloride (FeCl_3) (0,01M) in the hydrochloric acid (HCl) (0,001M). The optical density of the mixture was read at 660 nm in UV-visible spectrophotometer.

2.4. Statistical Analysis

The comparison of the average amounts of phenolic compounds dosed in the six studied labiates' leaves was carried out using one-way ANOVA.

We considered the difference significant when p (probability) value is less than 0,05, highly significant if $**p \leq 0,01$ and very highly significant when $***p \leq 0,001$. If $p > 0,05$, the difference is on the other hand no significant.

The obtained results were analyzed too, through Principal Components Analysis (P.C.A), using STATISTICA 6, in order to synthesize the data contained in a crossing table of the individuals and the quantitative variables (Ali Kouani et al., 2007). The P.C.A was aimed to show existing affinities between the phenolic compositions (quantitative variables) and the selected species (individuals).

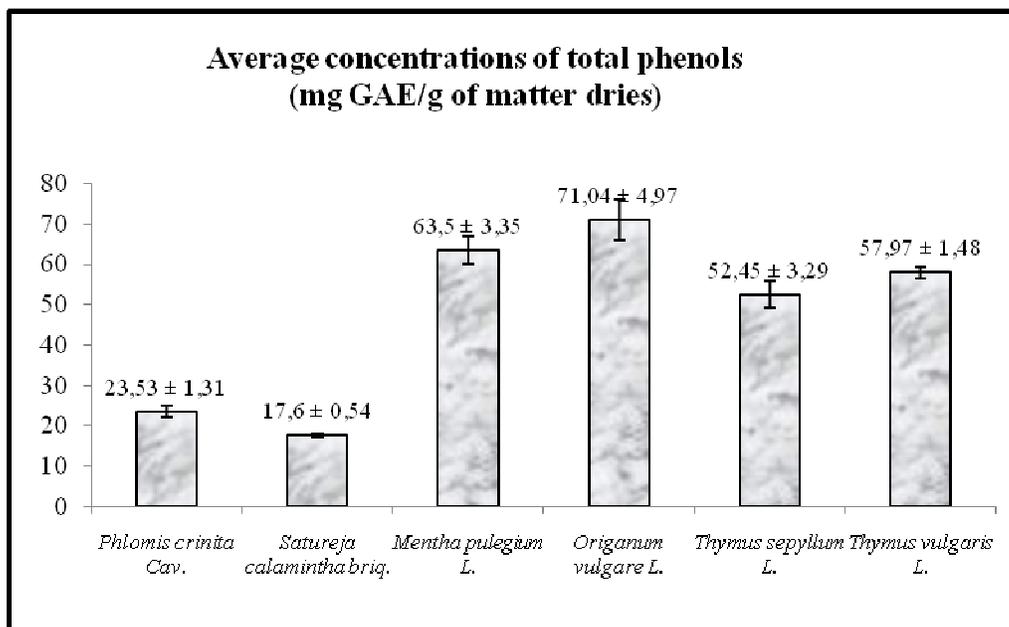
3. Results and Discussion

3.1 Content of Total Phenols

Figure 1 describes the average concentrations of total phenol dosed in the leaves of the six studied species.

The one-way ANOVA revealed very highly significant differences ($***p < 0,001$) between the average concentrations of total phenol among the studied species.

Figure 1: Average Concentrations in Total Phenol, in Milligrams Gallic Acid Equivalent by Gram of Matter Dries (mg GAE/g) \pm Standard Deviation.

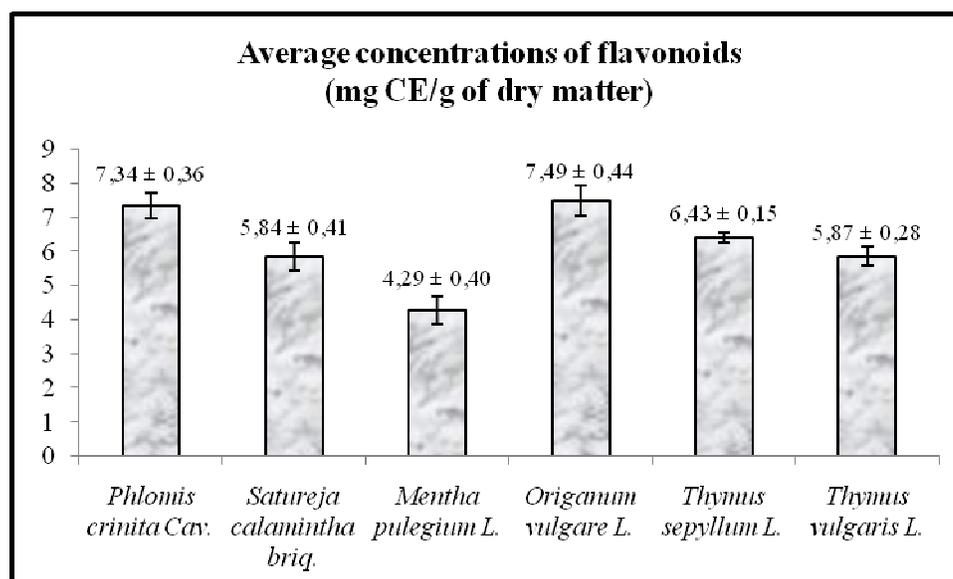


3.2 Contents of Flavonoids

The average contents of flavonoids are shown in figure 2.

The analysis of variance revealed a very highly significant difference (***) $p < 0,001$ between the amounts of flavonoids.

Figure 2: Average concentrations in flavonoids in milligrams catechin equivalent by gram of dry matter (mg CE/g) \pm standard deviation.

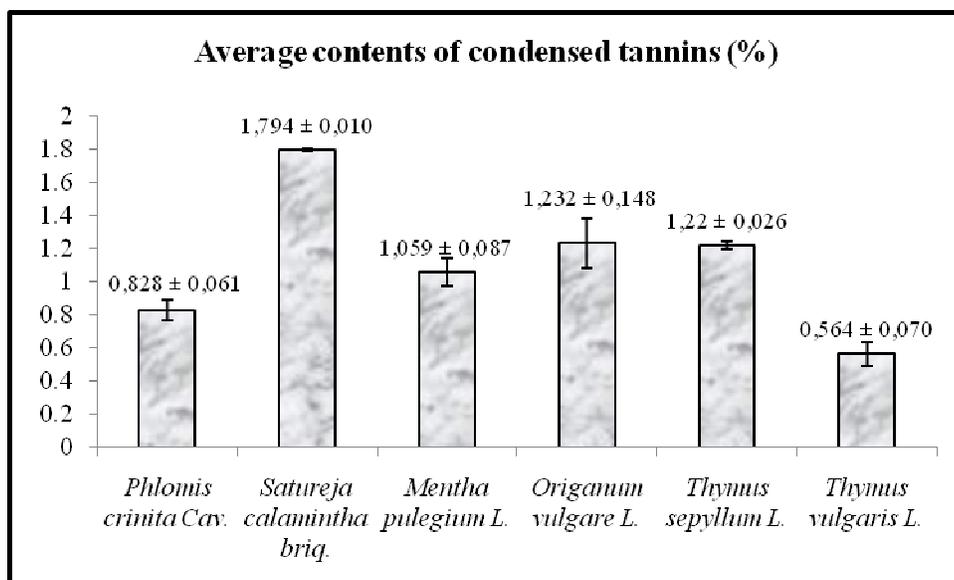


3.3 Contents of Condensed Tannins

The obtained results are summarized in figure 3.

The one-way ANOVA analysis showed a very highly significant difference (***) $p < 0,001$ between the average concentrations in condensed tannins among the studied species.

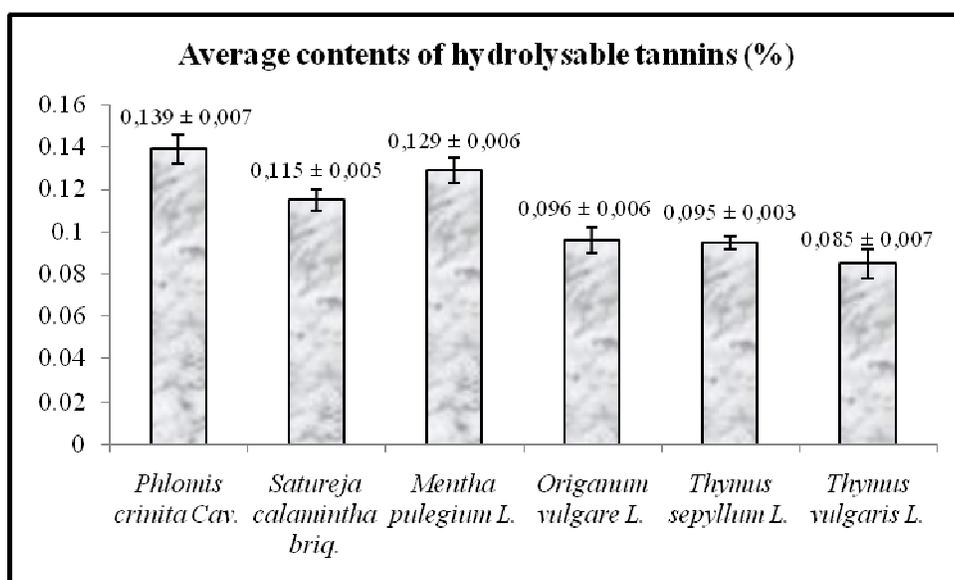
Figure 3: Average contents of condensed tannins in percentage (%) \pm standard deviation.



3.4 Contents of Hydrolysable Tannins

The levels of hydrolysable tannins are presented in figure 4. The one-way ANOVA analysis showed a very highly significant difference (***) $p < 0,001$ between the average concentrations in hydrolysable tannins among the six studied plants.

Figure 4: Average contents in hydrolysable tannins in % ± standard deviation.



3.5 Principal Components Analysis Results

The P.C.A crossed the results obtained of the various phenolic compounds (variables) with the individuals which are represented by the species. This analysis allowed to highlight existing affinities between the concentrations of polyphenols and the studied species.

Factor Analysis on the Individuals (Studied Species)

At the level of factorial design ($F1 \times F2$), 42, 07 % of data was explained by axis F1 and 26,87 % of data by axis F2.

The contribution of various individuals, as shown in table 1, and the analysis of P.C.A on the factorial design (F1 x F2) (Fig. 5) brought out two principal groups:

Group 1 (Gr1), represented by *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L., *Thymus vulgaris* L. and *Mentha pulegium*, gathers the richest plants species in polyphenols.

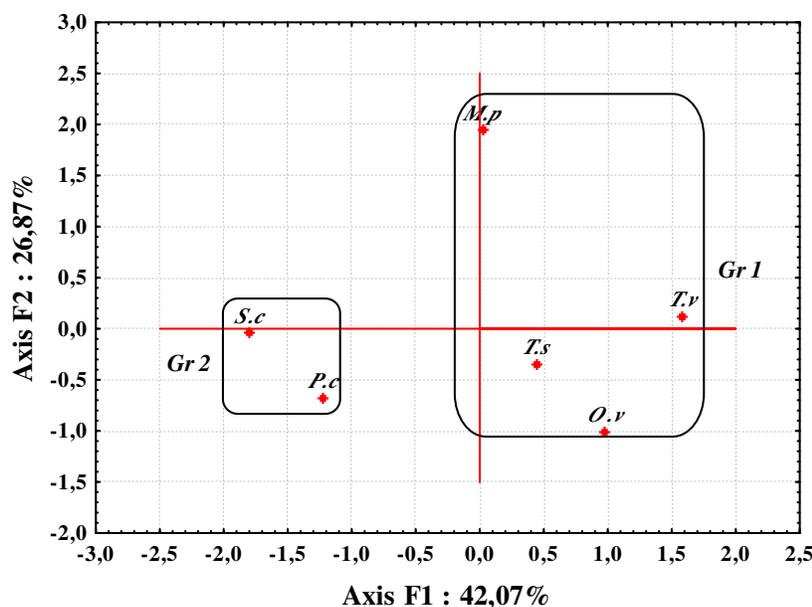
Group 2 (Gr 2) included *Phlomis crinita* Cav. and *Satureja calamintha* briq. These species showed less significant contents in polyphenols.

Both groups were confirmed by P.C.A analysis on factorial design (F1 x F4) (fig. 6).

Table 1: Contribution of the individuals on axis 1 and 2

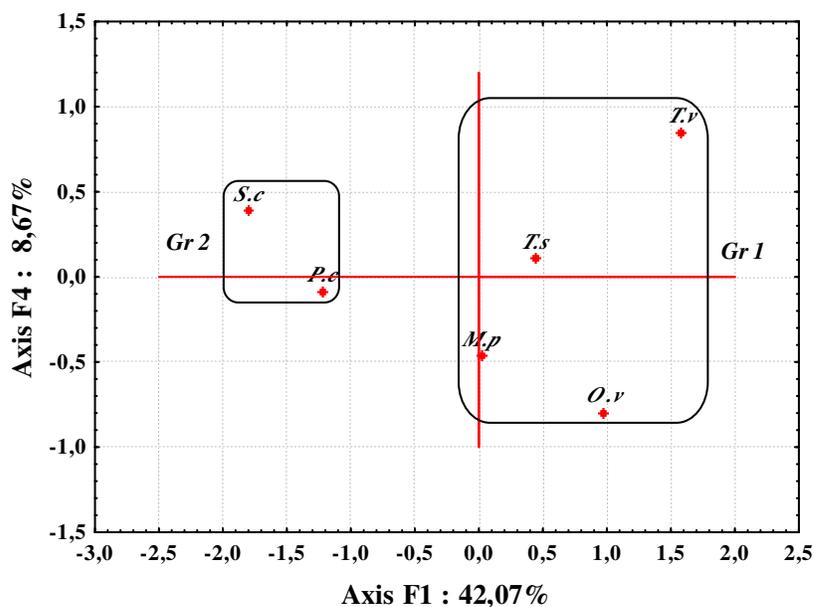
Species	Axis 1	Axis 2
Phlomis crinita Cav.	-1,22289	-0,67858
Satureja calamintha briq.	-1,80188	-0,03873
Mentha pulegium L.	0,01805	1,94178
Origanum vulgare L.	0,97946	-1,00203
Thymus serpyllum L.	0,44020	-0,34861
Thymus vulgaris L.	1,58706	0,12617

Figure 5: Projection of the individuals on the factorial design (F1 x F2).



Gr: Group ; **P.c:** Phlomis crinita Cav.; **S.c:** Satureja calamintha briq.; **M.p:** Mentha pulegium L.; **O.v:** Origanum vulgare L.; **T.s:** Thymus serpyllum L.; **T.v:** Thymus vulgaris L.

Figure 6: Projection of the individuals on the factorial design (F1 x F4)



Gr: Group ; P.c: *Phlomis crinita* Cav.; S.c: *Satureja calamintha* briq.; M.p: *Mentha pulegium* L.; O.v: *Origanum vulgare* L.; T.s: *Thymus serpyllum* L.; T.v: *Thymus vulgaris* L.

The polyphenols amounts, obtained among the six studied species (total phenols, flavonoids, condensed tannins and hydrolysable tannins) were summarized in table 2.

Table 2: Average Contents of Polyphenols Proportioned in the Species

Species	Total phenols (mg GAE/g)	Flavonoids (mg CE/g)	Condensed tannins (%)	Hydrolysable tannins (%)
<i>Phlomis crinita</i> Cav.	23,53 ± 1,31	7,34 ± 0,36	0,828 ± 0,061	0,139 ± 0,007
<i>Satureja calamintha</i> briq.	17,6 ± 0,54	5,84 ± 0,41	1,794 ± 0,010	0,115 ± 0,005
<i>Mentha pulegium</i> L.	63,5 ± 3,35	4,29 ± 0,40	1,059 ± 0,087	0,129 ± 0,006
<i>Origanum vulgare</i> L.	71,04 ± 4,97	7,49 ± 0,44	1,232 ± 0,148	0,096 ± 0,006
<i>Thymus serpyllum</i> L.	52,45 ± 3,29	6,43 ± 0,15	1,220 ± 0,026	0,095 ± 0,003
<i>Thymus vulgaris</i> L.	57,97 ± 1,48	5,87 ± 0,28	0,564 ± 0,070	0,085 ± 0,007

Various solvents can be used in the extractions of polyphenols (Turkmen et al., 2007). Methanol is the most frequently used and recommended for the extraction of the phenolic compounds (Falleh et al., 2008).

Several factors could influence the content of phenolic compounds. Numerous studies have shown that extrinsic factors such as: geographical, climatic and environmental factors (Ebrahimi et al., 2008; Falleh et al., 2008), genetic, the degree of maturation of the plant and the period of harvest could have a strong influence on the polyphenol contents (Miliauskas et al., 2004; Podsedek, 2007; Falleh et al., 2008).

Indeed, the content in total phenols is not stable and varies from a plant to another, according to the sources of collected specimens and species of the same genus. This was confirmed through the comparison between the obtained results on the studied species: *Phlomis crinita* Cav., *Satureja calamintha* briq., *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L.

This variation between the six species was established by the analysis of the variance. Cosio et al. (2006) found the same differences among several species of *Lamiaceae* in Italy.

The highest concentrations were recorded in the extracts of *Origanum vulgare* L. leaves (71,04 ± 4,97 mg GAE/g). Maximum rates, of about 89 mg GAE/g, were noticed in another species *Origanum sipyleum* (Nakiboglu et al., 2007) of the same genus.

Total phenols in *Mentha pulegium* L. was similar to *Mentha spicata* (Scherer et al., 2013).

The results obtained from *Thymus vulgaris* L. ($57,97 \pm 1,48$ mg GAE/g) and *Thymus serpyllum* L. ($52,45 \pm 3,29$ mg GAE/g) agree with those obtained by Fecka and Turek (2008). Kholkhal et al. (2013) obtained a closer amount with *Thymus ciliatus* in which they found 64,23 mg/g. On another Algerian endemic thyme (*Thymus algeriensis* Boiss. & Reut.), Khaled Khoudja (2014) recorded similar rates to our results ($52,85 \pm 1,56$ mg GAE/g).

The leaves of *Phlomis crinita* Cav. and *Satureja calamintha* briq., contained the lowest measures ($23,53 \pm 1,31$ mg GAE/g and $17,60 \pm 0,54$ mg GAE/g). Too closer values, obtained by Proestos et al. (2013), were found in the extracts from leaves of *Phlomis cretica* ($16,2 \pm 0,1$ mg GAE/g), of *Phlomis lanata* ($21,4 \pm 0,3$ mg GAE/g) and of *Satureja thymbra* ($9,2 \pm 0,1$ mg GAE/g).

According to Gomez- Caravaca et al. (2006), flavonoids constitute the most significant class of polyphenols. The analysis of the variance confirmed the variation of the average concentrations in flavonoids characterizing the vegetable species ($***p < 0,001$).

The leaves of *Origanum vulgare* L. and of *Phlomis crinita* Cav., were the richest in flavonoids with concentrations of $7,49 \pm 0,44$ mg CE/g and $7,34 \pm 0,36$ mg CE/g respectively. Followed by the leaves of *Thymus serpyllum* L. ($6,43 \pm 0,15$ mg CE/g), of *Thymus vulgaris* L. ($5,87 \pm 0,28$ mg CE/g) and of *Satureja calamintha* briq. ($5,84 \pm 0,41$ mg CE/g). However, a rate of $4,29 \pm 0,40$ mg CE/g characterized the leaves of *Mentha pulegium* L.

These values are similar to those obtained by Basli et al. (2012) on *Origanum glandulosum* ($6,10$ mg/g).

As for total phenols, the content of tannins was not stable and varies according to several factors such as: species, phenologic stage and climatic factors (Muller-Harvey and Mc Allan, 1992; Jean- Blain, 1998; Norton, 1999; Waterman, 1999).

These differences were confirmed by the one-way ANOVA for the six species for which the differences in contents of the condensed and hydrolysable tannins were very highly significant ($***p < 0,001$). Our results ($0,65\% - 1,9\%$) are similar to those obtained by Žugić et al. (2014) performed on the leaves' extracts of *Mentha pulegium* ($1,5\%$ of tannins).

Conclusion

Our results showed that the medicinal plants of the Mediterranean area from Algeria, mainly the lamiaceae have a noteworthy potential in chemical substances.

The polyphenols amounts, obtained among the studied species, highlight the potentials of each species. In order of importance, the origano (*Origanum vulgare* L.) was the most interesting taxon, followed by mint (*Mentha pulegium* L.), the serpolet (*Thymus serpyllum* L.) and the common thyme (*Thymus vulgaris* L.). The oregano and mint were the richest plants in total phenols. Concerning flavonoids, the origano and *Phlomis* presented the highest rates in this component.

Thus, these species of family *Lamiaceae* in Algeria have priority for deep chemical screening. That will allow thereafter the most suitable medicinal uses.

References

- [1] Abdel-Hameed, E.S., 2009. "Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples". Food Chemistry 114, pp. 1271-1277.
- [2] Ali Kouani, S., S., El Jamali and M. Talbi, 2007. "Analyse en composantes principales: une méthode factorielle pour traiter les données didactiques". Faculté des Sciences. Ben M'Sik, Université Hassane II. Radisma 2, pp. 1-18.
- [3] Bahorun, T., 1997. "Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle". Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius, pp. 83-94.

- [4] Basli, A., M., Chibane, K., Madani and N., Oukil, 2012. "Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf". *Phytothérapie* 10, pp. 2–9.
- [5] Cosio, M.S., S., Buratti, S., Mannino and S., Benedetti, 2006. "Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family". *Food chemistry* 97, pp. 725-731.
- [6] Ebrahimi, N.S., J., Hadian, M.H., Mirjalili, A., Sonboli and M., Yousefzadi, 2008. "Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages". *Food chemistry* 110, pp. 927-931.
- [7] El Hadrami, I., T., Ramos, M., El Bellaj, T., El Idrissi and J.J., Macheix, 1997. "A sinapic derivative as an induced defence compound of date palm against *Fusarium oxysporum* Sp. *albiedinis*, the agent causing bayoud disease". *Journal of Phytopathology* 145, pp. 329-333.
- [8] Falleh, H., R., Ksouri, K., Chaieb, N., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, M., Boulaaba and C., Abdelly, 2008. "Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities". *Comptes Rendus Biologies*. 331, pp. 372-379.
- [9] Fecka, I. and S., Turek, 2008. "Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from *Lamiaceae*: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques". *Food Chemistry* 108, pp. 1039-1053.
- [10] Gomez-Caravaca, A.M., M., Gomez-Romero, D., Arraez-Roman, A., Segura-Carretero and A., Fernandez-Gutierrez, 2006. "Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, pp. 1220-1234.
- [11] Gortzi, O., S., Lalas, I., Chinou and J., Tsaknis, 2007. "Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes". *Molecules* 12, pp. 932-945.
- [12] Jean- Blain, C., 1998. "Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins". *Revue de Médecine Vétérinaire* 149, pp. 911-920.
- [13] Judd, W.S., C.S., Campbell, E.A., Kellogg and P., Stevens, 2002. "Botanique systématique: une perspective phylogénétique". De Boeck université, pp. 467.
- [14] Khaled khoudja, N., L., Boulekbache- Makhlof and K., Madani, 2014. "Antioxidant capacity of crude extracts and their solvent fractions of selected Algerian *Lamiaceae*". *Industrial Crops and Products* 52, pp. 177–182.
- [15] Kholkhal, F., H.A., Lazouni, M., Bendahou, I., Boublenza, S.D., Chabane and T., Chaouch, 2013. "Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus Ciliatus* ssp. *Coloratus*". *Afrique SCIENCE* 09 (1), pp. 151–158.
- [16] Kosar, M., H. J. D., Dorman and R., Hiltunen, 2005. "Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected *Lamiaceae* species". *Food Chemistry* 91, pp. 525–533.
- [17] Maisuthisakul, P., S., Pasuk and P., Ritthiruangdej, 2008. "Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants". *Journal of Food Composition and Analysis* 21, pp. 229-240.
- [18] Marfak, A., 2003. "Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de Leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools: Formation de Depsides". Thèse de doctorat. Université de Limoges. France. 187p.
- [19] Miliauskas, G., P.R., Venskutonis and T.A., Van Beek, 2004. "Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract". *Food chemistry* 85, pp. 231-237.
- [20] Mole, S. and P.G., Waterman, 1987. "A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. II. Techniques for biochemically defining tannins". *Ecologia* 72, pp. 148-156.
- [21] Muller-Harvey, I. and A.B., Mc Allan, 1992. "Tannins: their biochemistry and nutritional properties". *Advances in Plant Cellular Biochemistry and Biotechnology* 1, pp. 151-217.

- [22] Nakiboglu, M., R.O., Urek, H.A., Kayali and L., Tarhan, 2007. "Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey". Food Chemistry 104, pp. 630–635.
- [23] Norton, B.W., 1999. "The significance of tannins in tropical animal production. In: Tannins in livestock and human nutrition, ACIAR (Australian Centre of the International Agricultural Research) proceedings". Edition: Brooker. Adelaide, Australia 92, pp. 14-23.
- [24] Podsedek, A., 2007. "Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. Food Science and Technology. 40:1-11.
- [25] Proestos C, Lytoudi K, Mavromelanidou O. K (2013) Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils". Antioxidants 2, pp. 11-22.
- [26] Quezel, P. and S., Santa, 1963. "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales". Edition Centre National de la recherche scientifique.
- [27] Scherer, R., M., Fumiere Lemos, M., Fumiere Lemos, G., Coimbra Martinelli, J.D.L., Martins, A., Gomez da Silva, 2013. "Antioxidant and antibacterial activities and composition of Brazilianspearmint (*Mentha spicata* L.)". Industrial Crops and Products 50, pp. 408–413.
- [28] Swain, T. and W.E., Hillis, 1959. "The phenolics constituents of *prunus domestica* –I- the quantitative analysis of phenolics constituents". Journal of the science of food and agriculture 10, pp. 13p.
- [29] Turkmen, N., Y.S., Velioglu, F., Sari and G., Polat, 2007. "Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea". Molecules 12, pp. 484-496.
- [30] Vági, E., E., Rapavi, M., Hadolin, K., Vásárhelyiné Perédi, A., Balázs, A., Blázovics and B., Simándi, 2005. "Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents". Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(1), pp. 17–21.
- [31] Waterman, P.G., 1999. "The tannins. An overview. In: Tannins in Livestock and Human, Nutrition. Proceedings of an international Workshop". Edition: Brooker. Adelaide, Australia, pp. 10-13.
- [32] Žugić, A., S., Đorđević and I., Arsić, 2014. "Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from Vrujci Spa, Serbia". Industrial Crops and Products 52, pp. 519–527.

Annexes

Annexe 1: *Phlomis crinita* Cav. (Institut Scientifique, Rabat, Maroc)



Annexe 2: *Satureja calamintha* Scheele. (Institut Scientifique, Rabat, Maroc)



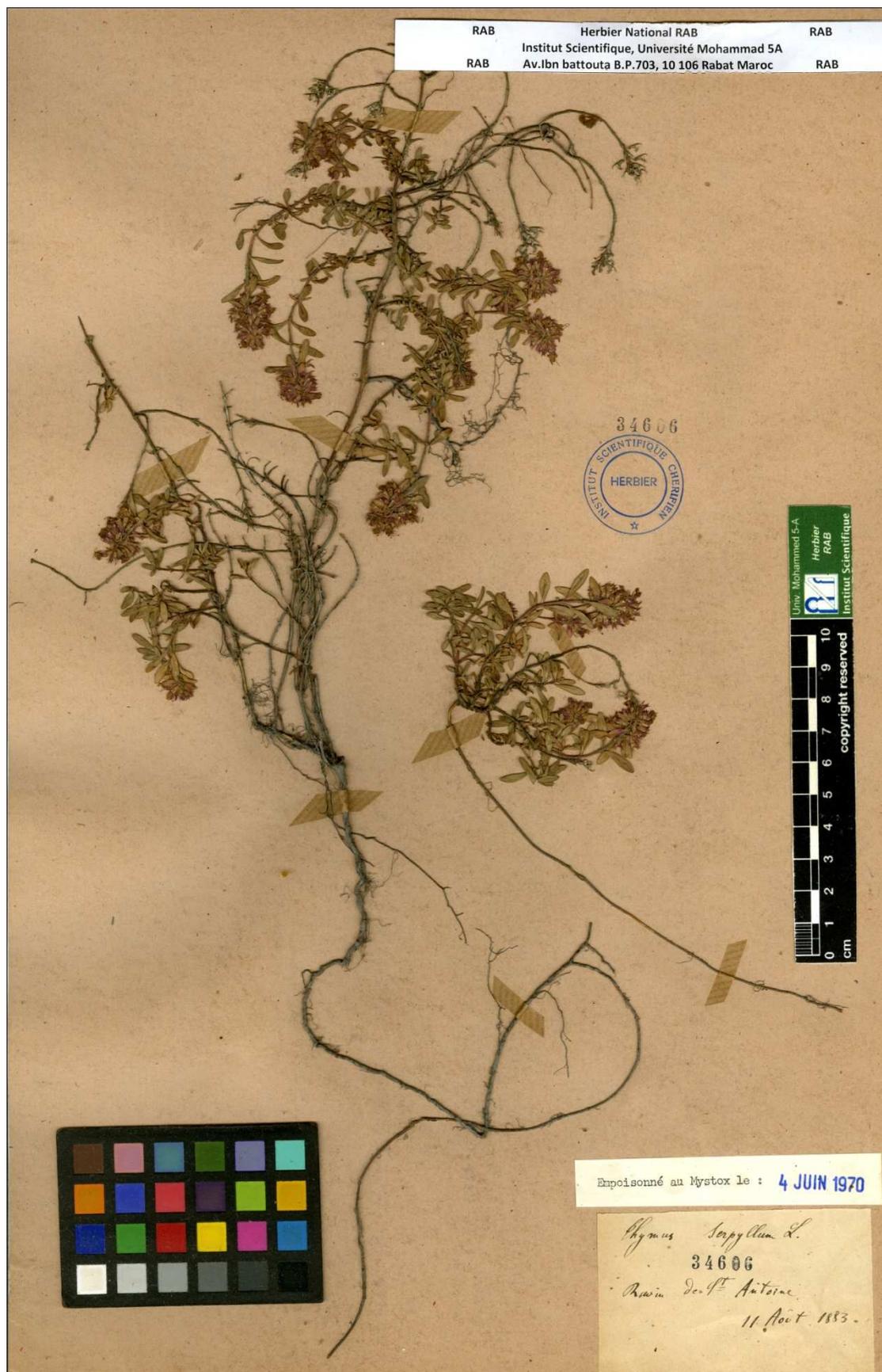
Annexe 3: *Origanum vulgare* L. (Institut Scientifique, Rabat, Maroc)



Annexe 4: *Mentha pulegium* L. (Institut Scientifique, Rabat, Maroc)



Annexe 5: *Thymus serpyllum* L. (Institut Scientifique, Rabat, Maroc)



Annexe 6: *Thymus vulgaris* L. (Institut Scientifique, Rabat, Maroc)

